

# 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, Айарпи Ездоглян

**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)  
А. Г. Платонова, д. м. н. (Киев, Украина)  
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. CiteScore 2018: 0,16

Журнал включен в WoS. JCR 2018: 0,13

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

Scopus®

WEB OF SCIENCE™

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.2019-04

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 обезьяны: Columbus Zoo and Aquarium



Подписано в печать 31.08.2019  
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, Aiarpi Ezdoglian

**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)  
Kzyzhkowska 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)  
Platonova AG, DSc (Kiev, Ukraine)  
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)  
Skobolina 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. CiteScore 2018: 0.16

Scopus®

Indexed in WoS. JCR 2018: 0.13

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.2019-04

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 monkey: Columbus Zoo and Aquarium



Approved for print 31.08.2019  
Circulation: 100 copies. Printed by Print.Formula  
[www.print-formula.ru](http://www.print-formula.ru)

<b>МНЕНИЕ</b>	<b>5</b>
Возможности применения экзосом для диагностики и лечения миодистрофии Дюшенна И. И. Галкин, Т. В. Егорова The potential of exosomes for the diagnosis and treatment of Duchenne muscular dystrophy Galkin II, Egorova TV	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>9</b>
Молекулярно-генетические и фенотипические особенности случаев возникновения десмоидного фиброматоза Т. А. Музаффарова, О. В. Новикова, И. Ю. Сачков, Ф. М. Кипкеева, Е. К. Гинтер, А. В. Карпужин Molecular-genetic and phenotypic characteristics of desmoid-type fibromatosis Muzaffarova TA, Novikova OV, Sachkov IYu, Kipkeeva FM, Ginter EK, Karpukhin AV	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>16</b>
Влияние нарушений кровотока и ликворотока по данным фазово-контрастной МРТ на состояние головного мозга при возраст-зависимой церебральной микроангиопатии Е. И. Кремнева, Б. М. Ахметзянов, Л. А. Добрынина, М. В. Кротенкова Associations between blood and cerebrospinal fluid flow impairments assessed with phase-contrast MRI and brain damage in patients with age-related cerebral small vessel disease Kremneva EI, Akhmetzyanov BM, Dobrynina LA, Krotenkova MV	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>25</b>
Оценка неоваскуляризации атеросклеротической бляшки каротидного синуса с помощью контраст-усиленного УЗИ А. Н. Евдокименко, А. О. Четкин, Л. Д. Дриина, М. М. Танашян Contrast-enhanced ultrasonography for assessing neovascularization of carotid atherosclerotic plaque Evdokimenko AN, Chechetkin AO, Druina LD, Tanashyan MM	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>34</b>
Динамика кинематического портрета постинсультного пареза руки на фоне реабилитации А. Е. Хижникова, А. С. Клочков, А. М. Котов-Смоленский, Н. А. Супонева, М. А. Пирадов Dynamics of post-stroke hand paresis kinematic pattern during rehabilitation Khizhnikova AE, Klochkov AS, Kotov-Smolenskiy AM, Suponeva NA, Piradov MA	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>42</b>
Эффективность тренажерной технологии визуализации образов в игровой деятельности для двигательной реабилитации детей с детским церебральным параличом В. В. Горелик, С. Н. Филиппова, В. С. Беляев, Е. В. Карлова Efficiency of image visualization simulator technology for physical rehabilitation of children with cerebral palsy through play Gorelik VV, Filippova SN, Belyaev VS, Karlova EV	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>50</b>
Эффективность внутрикостного введения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы в зону отека костного мозга при остеоартрозе коленного сустава А. В. Лычагин, А. В. Гаркави, О. И. Ислайих, П. И. Катунян, Д. С. Бобров, Р. Х. Явиева, Е. Ю. Целищева Effectiveness of Intraosseous Infiltration of Autologous Platelet-Rich Plasma in the area of the bone marrow edema in osteoarthritis of the knee joint Lychagin AV, Garkavi AV, Islaiekh OI, Katunyan PI, Bobrov DS, Yavlieva RH, Tselisheva EYu	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>57</b>
Опыт применения культурального, масс-спектрометрического и молекулярного методов в исследовании кишечной микробиоты у детей Б. А. Ефимов, А. В. Чаплин, С. Р. Соколова, З. А. Черная, А. П. Пикина, А. М. Савилова, Л. И. Кафарская Application of culture-based, mass spectrometry and molecular methods to the study of gut microbiota in children Efimov BA, Chaplin AV, Sokolova SR, Chernaya ZA, Pikina AP, Savilova AM, Kafarskaya LI	

## ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

69

### Возможности использования компьютерных моделей для снижения рисков при временном протезировании

Н. В. Багрянцева, С. И. Гажва, А. А. Баранов, Л. Б. Шубин, В. А. Багрянцев, О. В. Багрянцева

### The feasibility of using computer-based models for reducing the risks of complications associated with temporary dentures

Bagryantseva NV, Gazhva SI, Baranov AA, Shubin LB, Bagryantsev VA, Bagryantseva OV

## ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

75

### Визуализация молекулярно-химического взаимодействия материала, биокompозита и ткани зуба на основе синхротронной ИК-микроспектроскопии

Д. Л. Голощапов, В. М. Кашкаров, Ю. А. Ипполитов, И. Ю. Ипполитов, Jitraporn Vongsvivut, П. В. Середин

### Synchrotron IR-microspectroscopy-based visualization of molecular and chemical interactions between dental cement, biomimetic composite and native dental tissue

Goloshchapov DL, Kashkarov VM, Ippolitov YuA, Ippolitov IYu, Jitraporn Vongsvivut, Seredin PV

## МЕТОД

83

### Гирудотерапия в лечении хронического генерализованного пародонтита

Т. И. Сашкина, А. И. Абдуллаева, Г. С. Рунова, И. В. Салдусова, О. В. Зайченко, Д. К. Фасхутдинов, С. И. Соколова, Е. П. Пустовая

### Hirudotherapy in treatment of chronic generalised periodontitis

Sashkina TI, Abdullaeva AI, Runova GS, Saldusova IV, Zajchenko OV, Faskhutdinov DK, Sokolova SI, Pustovaya EP

## ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

87

### Влияние электронных устройств на физическое развитие современной молодежи и рекомендации по регламенту их использования

О. Ю. Милушкина, Н. А. Скоблина, С. В. Маркелова, А. А. Татаринчик, Е. П. Мелихова, И. И. Либина, М. В. Попов

### The impact of electronic devices on the physical growth and development of the modern youth and recommendations on their safe use

Milushkina OYu, Skoblina NA, Markelova SV, Tatarinchik AA, Melikhova EP, Libina II, Popov MV

## МНЕНИЕ

95

### Профессиональный путь врача: «барьеры» идентичности

Э. Меттини, Б. А. Ясько, Б. В. Казарин, М. Г. Остроушко

### A medical career: barriers to professional identity

Mettini E, Yasko BA, Kazarin BV, Ostroushko MG

## ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКЗОСОМ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ МИОДИСТРОФИИ ДЮШЕННА

И. И. Галкин<sup>1,2</sup>, Т. В. Егорова<sup>1,3</sup> ✉

<sup>1</sup> ООО «Марлин Биотех», Москва, Россия

<sup>2</sup> Институт физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского, Москва, Россия

<sup>3</sup> Институт биологии гена, Москва, Россия

Миодистрофия Дюшенна — наиболее часто встречающаяся форма миодистрофии. Однако эффективного лечения этого заболевания до сих пор не разработано. В настоящее время появляются работы, посвященные использованию экзосом в моделях миодистрофии Дюшенна. Экзосомы, небольшие (40–100 нм) везикулы, секретируемые клетками в межклеточное пространство, переносят некоторые макромолекулы (микроРНК, белки), анализ которых может быть использован для неинвазивной оценки успешности применяемой терапии. Кроме того, они могут обеспечивать адресную доставку активных веществ (например, микроРНК, антисмысловых олигонуклеотидов). Анализируя имеющиеся данные и оценивая возможность диагностики и терапии дистрофии Дюшенна с помощью этих везикул, мы предполагаем, что экзосомы могут занять место в арсенале исследователей и врачей, если удастся решить некоторые технические проблемы.

**Ключевые слова:** миодистрофия Дюшенна, экзосомы, адресная доставка, жидкостная биопсия, генетическая терапия

**Информация о вкладе авторов:** И. И. Галкин, Т. В. Егорова — анализ литературы, написание текста статьи.

✉ **Для корреспонденции:** Татьяна Владимировна Егорова  
ул. Вавилова, 34/5, г. Москва, 119334; t.dimitrieva@marlinbiotech.com

**Статья получена:** 21.07.2019 **Статья принята к печати:** 05.08.2019 **Опубликована онлайн:** 12.08.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.049

## THE POTENTIAL OF EXOSOMES FOR THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY

Galkin II<sup>1,2</sup>, Egorova TV<sup>1,3</sup> ✉

<sup>1</sup> Marlin Biotech LLC, Moscow, Russia

<sup>2</sup> A. N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Duchenne muscular dystrophy is the most common type of muscular dystrophy. There is no effective cure for this disease. Recently, researchers have started to look at the therapeutic potential of exosomes — small (40–100 nm) vesicles secreted by cells into the extracellular environment. They transport a few types of macromolecules, including microRNA and proteins, that can be analyzed to estimate the efficacy of the applied therapy. Besides, exosomes can be harnessed for delivering therapeutic components (microRNA, antisense oligonucleotides) to the target tissue. Below, we analyze the available literature and assess the feasibility of using exosomes in the diagnosis and treatment of Duchenne muscular dystrophy. We conclude that exosomes can have their place in the arsenal of researchers and clinicians once some technical issues are solved.

**Keywords:** Duchenne muscular dystrophy, exosomes, targeted drug delivery, liquid biopsy, gene therapy

**Author contribution:** Galkin II, Egorova TV — literature analysis and manuscript preparation.

✉ **Correspondence should be addressed:** Tatiana V. Egorova  
Vavilova 34/5, Moscow, 119334; t.dimitrieva@marlinbiotech.com

**Received:** 21.07.2019 **Accepted:** 05.08.2019 **Published online:** 12.08.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.049

Миодистрофия Дюшенна (МДД) — X-сцепленное рецессивное заболевание, вызываемое мутациями в гене *DMD*. Мутации приводят к недостаточной выработке белка дистрофина либо к синтезу его нефункциональной формы. Болезнь проявляется в постепенной деградации мышечной ткани и развитии фиброза. В возрасте 8–12 лет пациент теряет способность двигаться самостоятельно, смерть чаще всего наступает от дыхательной или сердечной недостаточности в возрасте около 20 лет. При незначительной потере функциональности дистрофина развивается более мягкая форма — дистрофия Беккера.

Большинство применяемых на сегодняшний день методов лечения можно отнести к симптоматическим. Среди них — поддерживающая физкультура, легкие ортопедические вмешательства для предотвращения контрактур, респираторная поддержка, назначение глюкокортикоидов [1]. Эти меры позволяют продлить как период самостоятельной двигательной активности, так и продолжительность жизни (до 30 лет). Очевидно, данные

подходы не направлены на устранение основной причины возникновения заболевания — недостатка или отсутствия функционирующего дистрофина. Восполнить недостаток этого белка можно с помощью разрабатываемых методов генной терапии. Основные подходы — доставка укороченного гена дистрофина (микродистрофина) с помощью аденоассоциированных вирусов (AAV) [2], модификация процессинга пре-мРНК (пропуск экзонов, или экзон-скиппинг) с помощью модифицированных олигонуклеотидов [3] или системы CRISPR-Cas. Подход, связанный с доставкой гена с помощью AAV, ограничен из-за возникновения иммунного ответа на белки капсида, а небольшая емкость капсида вынуждает использовать укороченные формы дистрофина, уступающие по функциональности полноразмерному белку. Методики, основанные на пропуске экзонов, демонстрируют низкую функциональную эффективность. К тому же их применение ограничено конкретными мутациями, поэтому каждое лекарственное средство может быть

применено для лечения только небольшой доли пациентов [3]. Общей проблемой, снижающей эффективность как существующих способов лечения МДД, так и перспективных методов генной терапии, является затруднение доставки действующего вещества в целевую ткань. Таким образом, и существующие, и перспективные методы терапии МДД имеют ряд серьезных ограничений и недостатков, и разработка новых подходов представляется крайне обнадеживающей. В последнее время появляется больше исследований, посвященных экзосомам, в том числе как потенциальным переносчикам действующих веществ [4].

Экзосомы — это класс внеклеточных везикул, секретируемых клетками в межклеточное пространство: кровь, лимфу, среду роста и т. д. Среди всех внеклеточных везикул экзосомы — наименьшие; в большинстве источников их размер определяют как 40–100 нм, реже 150 нм. В отличие от других внеклеточных везикул — апоптотических телец (диаметр 50–1000 нм) и микровезикул, отшнуровывающихся от клеточной мембраны (диаметр 100–300 нм), экзосомы секретируются после слияния мультивезикулярного тела с мембраной [5]. Первоначально экзосомы считали своего рода «мусорными мешками», задача которых состоит в удалении ненужных веществ из клетки. На сегодняшний день продемонстрирована роль экзосом в переносе информации (преимущественно в виде белков и микроРНК) между клетками [5]. На липидной поверхности экзосом экспонированы некоторые белки группы кластеров дифференцировки (CD9, CD63 и др.), обнаружены компоненты главного комплекса гистосовместимости. Поверхностные белки предотвращают удаление экзосом из кровотока и стимулируют рецепторно-опосредованный эндоцитоз [6, 7]. Эти белки можно модифицировать методами клик-химии и с помощью создания клеточных культур, экспрессирующих поверхностный белок экзосом с добавленным направляющим пептидом. Направляющий пептид на поверхности экзосом повышает их аффинность к рецепторам, экспонированным в целевой ткани [6, 8]. Аналогичным способом к поверхности экзосом можно прикрепить и полезный «груз» — биологические макромолекулы (нуклеиновые кислоты, белки) и низкомолекулярные соединения (ингибиторы, антисмысловые нуклеотиды (ACO)) [6]. Возможность направления экзосом в целевые ткани с помощью модификации их поверхности, низкая иммуногенность этих везикул и высокий потенциал для загрузки могут значительно увеличить их эффективность по сравнению, например, с липосомами, и делают их привлекательными для переноса действующего вещества лекарственных средств. Терапевтические методики, связанные с применением экзосом, находятся в стадии разработки. Чаще всего экзосомы применяют для диагностики: с их помощью, например, достаточно эффективно выявляют онкологические, сердечно-сосудистые и неврологические патологии [9]. Есть попытки применения экзосом для терапии [9].

#### **Применение экзосом при дистрофии Дюшенна: диагностика**

Для определения наличия дистрофии Дюшенна/Беккера применяют молекулярно-биологические методы (ПЦР, MLPA, секвенирование), которые позволяют определить точную локализацию и тип мутации. Биопсия ткани пациента, применяющаяся в сложных случаях, позволяет определить наличие и локализацию дистрофина и

состояние мышечной ткани. Однако контроль за состоянием пациента необходим и в процессе лечения. Неоднократное взятие биопсии не практикуют, так как его может тяжело переносить пациент, к тому же биопсия позволяет оценить состояние только небольшой области одной мышцы. Вместе с тем, функциональный тест 6-минутной ходьбы позволяет оценивать состояние лишь амбулаторных пациентов, а результат выполнения теста зависит от внимательности пациента, его желания и способности следовать методике. Поэтому весьма актуальной представляется задача разработки малоинвазивного и надежного метода для оценки динамики состояния пациента с миодистрофией на протяжении и после терапии. Решением проблемы может оказаться подход, аналогичный жидкостной биопсии (от англ. «liquid biopsy») — анализ экзосомальных микроРНК, полученных из крови пациента. Известен ряд микроРНК (miR-1, miR-21, miR-29, miR-31, miR-29, miR-133, miR-133b, miR-206), которые принимают участие в процессах регенерации и дифференцировки мышечной ткани. Три основные «мышечные» микроРНК (miR-1, miR-133 и miR-206) повышаются в сыворотке крови больных МДД, причем повышение уровня miR-206 обнаруживается даже у женщин — носительниц дефектного гена [10]. Есть данные о еще большей группе микроРНК (miR-22, miR-30, miR-95, miR-181, miR-193b, miR-208a, miR-208b, miR-378 и miR-499), которые так же могут послужить маркерами заболевания, однако в этом вопросе требуется подтверждение. Тем не менее, анализ содержания экзосомальных «мышечных» микроРНК во время лечения, например с помощью РМО (phosphorodiamidate morpholino oligomers — морфолиновые олигонуклеотиды, разновидность АСО, используемая для пропуска экзонов, например Eteplirsen [3]), может дать информацию об эффективности терапии [10].

#### **Применение экзосом при дистрофии Дюшенна: терапия нативными экзосомами**

Попытки использовать стволовые клетки для лечения различных патологий предпринимают достаточно давно. В моделях МДД применяют стволовые клетки, полученные из сердечной стромы («клетки, полученные от кардиосфер») [11]. Клинические испытания препарата на основе стволовых клеток сейчас находятся на второй стадии. Основным механизмом лечения стволовыми клетками, как считают, обусловлен их способностью стимулировать дифференцировку и регенерацию. По результатам последних исследований, именно экзосомы стволовых клеток являются медиаторами переноса сигнала от стволовых клеток в целевые ткани. Действительно, в исследовании на мышинной модели МДД (мышь mdx) было показано, что интракардиальный [11] и внутривенный [12] способы доставки экзосом, полученных от кардиосфер, позволили воспроизвести почти все положительные эффекты доставки, осуществляемой самими стволовыми клетками. Интересно отметить, что в мышцах после применения «кардиосферных» экзосом детектировали дистрофин; при этом дистрофин или его мРНК в экзосомах обнаружены не были. Анализ РНК, содержащихся в «кардиосферных» экзосомах, показал, что они обогащены miR-148a. Внутримышечное введение этой микроРНК привело к частичному восстановлению уровня дистрофина, что указывает на возможный механизм действия «кардиосферных» экзосом [11]. Сходные



эффекты (стимуляцию регенерации мышц, снижение степени фиброза и улучшение функционального состояния) вызывают экзосомы, полученные из других источников — клеток линии C2C12 [13, 14] и клеток плаценты [15]. В последнем исследовании положительное действие экзосом также обеспечивает доставка микроРНК (в данном случае miR-29). Необходимо отметить, что во всех этих и обсуждаемых ниже работах уделяли мало внимания возможным побочным эффектам введения экзосом. Чаще всего авторы оценивают изменение веса подопытных животных, уровень ферментов печени, азот мочевины крови, но не рассматривают реакцию иммунной системы.

#### **Применение экзосом при дистрофии Дюшенна: терапия предварительно загруженными экзосомами. Таргетирование экзосом**

Лечение МДД нативными экзосомами представляется перспективным, однако подобный подход в чем-то аналогичен существующим, так как не направлен на решение ключевой проблемы — отсутствия дистрофина. Решить эту проблему помогло бы использование экзосом как переносчиков активных веществ. Идея доставлять полноразмерный белок или его ген, или хотя бы редуцированную форму (микродистрофин) выглядит очень привлекательной. Однако длина полноразмерного дистрофина составляет примерно 150–180 нм, что превосходит верхнюю оценку диаметра экзосомы. Поэтому, по всей видимости, загрузка в экзосомы белка или кодирующей конструкции будет малоэффективной. Но можно использовать экзосомы для доставки низкомолекулярных соединений. Для лечения МДД применяют синтетические АСО. Так, в одной из работ был отобран пептид, связывающийся избирательно с

поверхностным белком экзосом CD63. В дальнейшем конъюгат пептида с АСО обеспечивал более эффективный пропуск экзона по сравнению со свободным АСО. Более того, конъюгат этого пептида с мышечно-специфичным пептидом M12 обеспечивал адресную доставку экзосом в мышцы [6]. В другой работе использовали экзосомы от клеток, трансформированных конструкцией, кодирующей химерный белок Lamp2b (лизосомный белок, экспонирующийся также на поверхности экзосом), слитый с мышечно- или нейроспецифическими пептидами. Модифицированные экзосомы эффективно доставляли эффекторные молекулы (в данном случае это были короткие интерферирующие РНК) в целевые клетки и ткани [8].

#### **ВЫВОДЫ**

Несмотря на большие усилия, эффективное лечение дистрофии Дюшенна по-прежнему не разработано. Существующие методы ограничены, малоэффективны и по большей части симптоматичны. Экзосомы благодаря своей низкой иммуногенности и потенциалу к модификации поверхности могут стать способом доставки действующих веществ. В то же время анализ экзосом пациента может обеспечить диагностику и контроль за прохождением лечения. При этом нельзя не отметить, что методы работы с экзосомами (выделения, стандартизации, загрузки) требуют дальнейшей оптимизации. Следует уделять внимание и иммуногенности экзосом, которая пока недостаточно изучена. Весьма интересной выглядит комбинация обсуждаемых подходов: использование экзосом с регенеративной функцией, загрузка их АСО и модификация поверхностных белков мышечно-специфичными пептидами.

#### **Литература**

1. Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, Apkon SD, Blackwell A, Brumbaugh D, et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and neuromuscular, rehabilitation, endocrine, and gastrointestinal and nutritional management. *Lancet Neurol.* 2018; 17 (3): 251–67. DOI: 10.1016/S1474-4422(18)30024-3. PubMed PMID: 29395989; PMCID: PMC5869704.
2. Duan D. Systemic AAV Micro-dystrophin Gene Therapy for Duchenne Muscular Dystrophy. *Mol Ther.* 2018; 26 (10): 2337–56. DOI: 10.1016/j.ymthe.2018.07.011. PubMed PMID: 30093306; PMCID: PMC6171037.
3. Lim KR, Maruyama R, Yokota T. Eteplirsen in the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Drug Des Devel Ther.* 2017; (11): 533–45. DOI: 10.2147/DDDT.S97635. PubMed PMID: 28280301; PMCID: PMC5338848.
4. Bunggulawa EJ, Wang W, Yin T, Wang N, Durkan C, Wang Y, et al. Recent advancements in the use of exosomes as drug delivery systems. *J Nanobiotechnology.* 2018; 16 (1): 81. DOI: 10.1186/s12951-018-0403-9. PubMed PMID: 30326899; PMCID: PMC6190562.
5. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *The Journal of cell biology.* 2013; 200 (4): 373–83. DOI: 10.1083/jcb.201211138. PubMed PMID: 23420871; PMCID: PMC3575529.
6. Gao X, Ran N, Dong X, Zuo B, Yang R, Zhou Q, Moulton HM, Seow Y, Yin H. Anchor peptide captures, targets, and loads exosomes of diverse origins for diagnostics and therapy. *Sci Transl Med.* 2018; 10 (444). DOI: 10.1126/scitranslmed.aat0195. PubMed PMID: 29875202.
7. Kamerkar S, LeBleu VS, Sugimoto H, Yang S, Ruivo CF, Melo SA, et al. Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer. *Nature.* 2017; 546 (7659): 498–503. DOI: 10.1038/nature22341. PubMed PMID: 28607485; PMCID: PMC5538883.
8. Alvarez-Erviti L, Seow Y, Yin H, Betts C, Lakhal S, Wood MJ. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nat Biotechnol.* 2011; 29 (4): 341–5. DOI: 10.1038/nbt.1807. PubMed PMID: 21423189.
9. Kim YS, Ahn JS, Kim HJ, Kim SH, Kang JS. The potential theragnostic (diagnostic + therapeutic) application of exosomes in diverse biomedical fields. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2018; 22 (2): 113–25. DOI: 10.4196/kjpp.2018.22.2.113. PubMed PMID: 29520164; PMCID: PMC5840070.
10. Coenen-Stass AML, Wood MJA, Roberts TC. Biomarker Potential of Extracellular miRNAs in Duchenne Muscular Dystrophy. *Trends Mol Med.* 2017; 23 (11): 989–1001. DOI: 10.1016/j.molmed.2017.09.002. PubMed PMID: 28988850.
11. Aminzadeh MA, Rogers RG, Fournier M, Tobin RE, Guan X, Childers MK, et al. Exosome-Mediated Benefits of Cell Therapy in Mouse and Human Models of Duchenne Muscular Dystrophy. *Stem Cell Reports.* 2018; 10 (3): 942–55. DOI: 10.1016/j.stemcr.2018.01.023. PubMed PMID: 29478899; PMCID: PMC5918344.
12. Rogers RG, Fournier M, Sanchez L, Ibrahim AG, Aminzadeh MA, Lewis MI, et al. Disease-modifying bioactivity of intravenous cardiophere-derived cells and exosomes in mdx mice. *JCI Insight.* 2019; 4 (7). DOI: 10.1172/jci.insight.125754. PubMed PMID: 30944252; PMCID: PMC6483717.

13. Su X, Shen Y, Jin Y, Jiang M, Weintraub N, Tang Y. Purification and Transplantation of Myogenic Progenitor Cell Derived Exosomes to Improve Cardiac Function in Duchenne Muscular Dystrophic Mice. *J Vis Exp*. 2019; (146). DOI: 10.3791/59320. PubMed PMID: 31033952.
14. Su X, Jin Y, Shen Y, Ju C, Cai J, Liu Y, et al. Exosome-Derived Dystrophin from Allograft Myogenic Progenitors Improves Cardiac Function in Duchenne Muscular Dystrophic Mice. *J Cardiovasc*

*Transl Res*. 2018; 11 (5): 412–9. DOI: 10.1007/s12265-018-9826-9. PubMed PMID: 30155598; PMCID: PMC6212302.

15. Bier A, Berenstein P, Kronfeld N, Morgoulis D, Ziv-Av A, Goldstein H, et al. Placenta-derived mesenchymal stromal cells and their exosomes exert therapeutic effects in Duchenne muscular dystrophy. *Biomaterials*. 2018; (174): 67–78. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.04.055. PubMed PMID: 29783118.

## References

1. Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, Apkon SD, Blackwell A, Brumbaugh D, et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and neuromuscular, rehabilitation, endocrine, and gastrointestinal and nutritional management. *Lancet Neurol*. 2018; 17 (3): 251–67. DOI: 10.1016/S1474-4422(18)30024-3. PubMed PMID: 29395989; PMCID: PMC5869704.
2. Duan D. Systemic AAV Micro-dystrophin Gene Therapy for Duchenne Muscular Dystrophy. *Mol Ther*. 2018; 26 (10): 2337–56. DOI: 10.1016/j.ymthe.2018.07.011. PubMed PMID: 30093306; PMCID: PMC6171037.
3. Lim KR, Maruyama R, Yokota T. Eteplirsen in the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Drug Des Devel Ther*. 2017; (11): 533–45. DOI: 10.2147/DDDT.S97635. PubMed PMID: 28280301; PMCID: PMC5338848.
4. Bungulawa EJ, Wang W, Yin T, Wang N, Durkan C, Wang Y, et al. Recent advancements in the use of exosomes as drug delivery systems. *J Nanobiotechnology*. 2018; 16 (1): 81. DOI: 10.1186/s12951-018-0403-9. PubMed PMID: 30326899; PMCID: PMC6190562.
5. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *The Journal of cell biology*. 2013; 200 (4): 373–83. DOI: 10.1083/jcb.201211138. PubMed PMID: 23420871; PMCID: PMC3575529.
6. Gao X, Ran N, Dong X, Zuo B, Yang R, Zhou Q, Moulton HM, Seow Y, Yin H. Anchor peptide captures, targets, and loads exosomes of diverse origins for diagnostics and therapy. *Sci Transl Med*. 2018; 10 (444). DOI: 10.1126/scitranslmed.aat0195. PubMed PMID: 29875202.
7. Kamekar S, LeBleu VS, Sugimoto H, Yang S, Ruivo CF, Melo SA, et al. Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer. *Nature*. 2017; 546 (7659): 498–503. DOI: 10.1038/nature22341. PubMed PMID: 28607485; PMCID: PMC5538883.
8. Alvarez-Erviti L, Seow Y, Yin H, Betts C, Lakhani S, Wood MJ. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nat Biotechnol*. 2011; 29 (4): 341–5. DOI: 10.1038/nbt.1807. PubMed PMID: 21423189.
9. Kim YS, Ahn JS, Kim S, Kim HJ, Kim SH, Kang JS. The potential theragnostic (diagnostic + therapeutic) application of exosomes in diverse biomedical fields. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2018; 22 (2): 113–25. DOI: 10.4196/kjpp.2018.22.2.113. PubMed PMID: 29520164; PMCID: PMC5840070.
10. Coenen-Stass AML, Wood MJA, Roberts TC. Biomarker Potential of Extracellular miRNAs in Duchenne Muscular Dystrophy. *Trends Mol Med*. 2017; 23 (11): 989–1001. DOI: 10.1016/j.molmed.2017.09.002. PubMed PMID: 28988850.
11. Aminzadeh MA, Rogers RG, Fournier M, Tobin RE, Guan X, Childers MK, et al. Exosome-Mediated Benefits of Cell Therapy in Mouse and Human Models of Duchenne Muscular Dystrophy. *Stem Cell Reports*. 2018; 10 (3): 942–55. DOI: 10.1016/j.stemcr.2018.01.023. PubMed PMID: 29478899; PMCID: PMC5918344.
12. Rogers RG, Fournier M, Sanchez L, Ibrahim AG, Aminzadeh MA, Lewis MI, et al. Disease-modifying bioactivity of intravenous cardiosphere-derived cells and exosomes in mdx mice. *JCI Insight*. 2019; 4 (7). DOI: 10.1172/jci.insight.125754. PubMed PMID: 30944252; PMCID: PMC6483717.
13. Su X, Shen Y, Jin Y, Jiang M, Weintraub N, Tang Y. Purification and Transplantation of Myogenic Progenitor Cell Derived Exosomes to Improve Cardiac Function in Duchenne Muscular Dystrophic Mice. *J Vis Exp*. 2019; (146). DOI: 10.3791/59320. PubMed PMID: 31033952.
14. Su X, Jin Y, Shen Y, Ju C, Cai J, Liu Y, et al. Exosome-Derived Dystrophin from Allograft Myogenic Progenitors Improves Cardiac Function in Duchenne Muscular Dystrophic Mice. *J Cardiovasc Transl Res*. 2018; 11 (5): 412–9. DOI: 10.1007/s12265-018-9826-9. PubMed PMID: 30155598; PMCID: PMC6212302.
15. Bier A, Berenstein P, Kronfeld N, Morgoulis D, Ziv-Av A, Goldstein H, et al. Placenta-derived mesenchymal stromal cells and their exosomes exert therapeutic effects in Duchenne muscular dystrophy. *Biomaterials*. 2018; (174): 67–78. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.04.055. PubMed PMID: 29783118.



## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЛУЧАЕВ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ДЕСМОИДНОГО ФИБРОМАТОЗА

Т. А. Музаффарова<sup>1</sup>, О. В. Новикова<sup>2</sup>, И. Ю. Сачков<sup>3</sup>, Ф. М. Кипкеева<sup>1</sup>✉, Е. К. Гинтер<sup>1</sup>, А. В. Карпукхин<sup>1</sup><sup>1</sup> Медико-генетический научный центр имени Н. П. Бочкова, Москва, Россия<sup>2</sup> Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена, Москва, Россия<sup>3</sup> Государственный научный центр колопроктологии имени А. Н. Рыжих, Москва, Россия

Десмоидные фибромы (ДФ) — редкие мезенхимальные опухоли с частотой возникновения 2–4 случая на 1 млн человек в год. Они могут возникать как спорадически, так и в ассоциации с семейным аденоматозным полипозом (САП). Природа возникновения спорадических ДФ ранее не была выяснена. Целью исследования было определить возможную значимость герминальных мутаций гена *APC* у пациентов со спорадическими ДФ. Экзоны гена *APC* амплифицировали и исследовали с помощью конформационно-чувствительного электрофореза в полиакриламидном геле и последующего секвенирования по Сэнгеру. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ «Statistica 10». При исследовании 51 случая спорадических ДФ мутации выявлены у 6 человек (12%). Пациенты с выявленными мутациями имели характерный фенотип: раннюю манифестацию (в среднем в 5,8 года, в то время как у пациентов без мутаций — в 19 лет ( $p = 0,02$ )); тяжелое течение заболевания; мультифокальный рост ДФ, локализованных на туловище, и неблагоприятный прогноз. Все выявленные мутации были обнаружены в области 3'-конца гена *APC*. Для сравнения со спорадическими были исследованы ДФ, связанные с САП (12 человек), мутации выявлены у 6 из них. При мутации в гене *APC* у пациентов с САП не было выявлено случаев множественных ДФ, фибромы у пациентов с САП развивались позже (35 лет), чем у пациентов со спорадическими ДФ ( $p = 0,004$ ). Следовательно, при мутациях в одном и том же гене фенотипы спорадических и ДФ, связанных с САП, различны. Для спорадического ДФ характерно более частое расположение мутаций на 3'-конце гена *APC* по сравнению с ДФ при САП. Таким образом, впервые среди спорадических ДФ охарактеризован подтип с фенотипическими особенностями, обусловленными герминальными мутациями в гене *APC*.

**Ключевые слова:** спорадический десмоидный фиброматоз, ген *APC*, мультифокальные десмоидные опухоли, семейный аденоматозный полипоз

**Информация о вкладе авторов:** Т. А. Музаффарова — проведение исследования, работа с литературными данными, оформление рукописи; О. В. Новикова, И. Ю. Сачков — предоставление образцов и клинических данных пациентов; Ф. М. Кипкеева, Е. К. Гинтер — работа с литературными данными, участие в оформлении рукописи; А. В. Карпукхин — организация исследования, оформление рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено комитетом по этике ФГБНУ «МГНЦ имени Бочкова Н. П.» (протокол № 3 от 09 февраля 2012 г.)

✉ **Для корреспонденции:** Фатима Магомедовна Кипкеева  
ул. Москворечье, д. 1, г. Москва, 115522; BRCA1@mail.ru

**Статья получена:** 25.06.2019 **Статья принята к печати:** 13.07.2019 **Опубликована онлайн:** 18.07.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.045

## MOLECULAR-GENETIC AND PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF DESMOID-TYPE FIBROMATOSIS

Muzaffarova TA<sup>1</sup>, Novikova OV<sup>2</sup>, Sachkov IYu<sup>3</sup>, Kipkeeva FM<sup>1</sup>✉, Ginter EK<sup>1</sup>, Karpukhin AV<sup>1</sup><sup>1</sup> Bochkov Research Center for Medical Genetics, Moscow, Russia<sup>2</sup> Hertsen Moscow Oncology Research Center, Moscow, Russia<sup>3</sup> Ryzhikh State Research Center for Coloproctology, Moscow, Russia

Desmoid-type fibromatosis (DF) is a rare mesenchymal tumor occurring in only 2 to 4 people per 1,000,000 population a year. Desmoid tumors are either seen sporadically or in individuals with familial adenomatous polyposis (FAP). The etiology of sporadic DF is uncertain. The aim of this study was to estimate the potential significance of germline mutations in the *APC* gene in patients with sporadic DF. *APC* exons were amplified, studied using conformation sensitive gel electrophoresis and then Sanger-sequenced. The obtained data were processed in Statistica 10. Mutations were detected in 6 (12%) of 51 participants with sporadic DF. Those 6 patients shared a typical DF phenotype characterized by early age of onset (5.8 years on average, in contrast to the patients without *APC* mutations, who developed DF at 19 years of age;  $p = 0.02$ ), severe clinical course, multifocal localization on the trunk, and poor prognosis. All of the detected *APC* mutations were localized to the 3'-end of the gene. For the purpose of comparison, we analyzed a sample of 12 patients with FAP-associated DF. Of those patients, 6 carried mutations in the *APC* gene. In the analyzed sample, the patients with FAP and the mutant *APC* gene developed DF at older age (35 years) than the patients with sporadic DF ( $p = 0.004$ ) and their tumors were not multifocal. This means that sporadic and FAP-associated desmoids have different phenotypes in patients with *APC* mutations. Patients with sporadic tumors have mutations at the 3'-end of the *APC* gene more often than individuals with FAP-associated DF. To our knowledge, this is the first study to characterize the subtype of sporadic desmoid fibromatosis phenotypically determined by germline mutations in the *APC* gene.

**Keywords:** sporadic desmoid-type fibromatosis, *APC* gene, multifocal desmoid tumors, familial adenomatous polyposis

**Author contribution:** Muzaffarova TA conducted the study, analyzed the literature and wrote the manuscript; Novikova OV, Sachkov IYu provided patients' samples and medical histories; Kipkeeva FM, Ginter EK analyzed the literature and wrote the manuscript; Karpukhin AV organized the study and revised the manuscript.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics committee of Bochkov Research Center for Medical Genetics (Protocol № 3 dated February 09, 2012).

✉ **Correspondence should be addressed:** Fatima M. Kipkeeva  
Moskvorechie 1, Moscow, 115522; BRCA1@mail.ru

**Received:** 25.06.2019 **Accepted:** 13.07.2019 **Published online:** 18.07.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.045

Десмоидные фибромы (ДФ) — гетерогенные доброкачественные опухоли, возникающие из глубоких мышечно-апоневротических структур. Они инфильтрируют окружающие мягкие ткани, но не метастазируют. ДФ состоят из веретеновидных клеток (фиброцитоподобных)

и избыточного количества коллагеновых волокон. Опухоль лишена капсулы и по периферии глубоко проникает в виде тяжей между мышечными волокнами, приводя к их атрофии. Помимо этого, десмоиды способны распространяться на значительные расстояния от основной опухоли

в виде узких тяжей, длина которых иногда достигает 20–30 см.

ДФ могут развиваться практически в любой анатомической части тела. В зависимости от локализации их подразделяют на экстраабдоминальные (брюшная стенка, грудная клетка, конечности, шея, область малого таза) и интраабдоминальные (брыжейка, забрюшинное пространство). В связи с тем, что ДФ не метастазируют, формально их следовало бы отнести к доброкачественным новообразованиям. Но из-за присущего им агрессивного роста и склонности к многократным рецидивам после хирургического лечения они более соответствуют злокачественным опухолям [1].

ДФ могут достигать огромных размеров и при ряде локализаций приводят к летальному исходу. Частота ДФ в популяции составляет 2–4 случая на 1 млн человек в год [2]. Эффективное лечение ДФ остается сложной клинической проблемой из-за инфильтративного роста и локального агрессивного поведения. Традиционно методом выбора является хирургический. Однако частота рецидивов после операций варьирует от 45 до 90% [3].

Десмоидные опухоли возникают спорадически, а также могут быть связанными с семейным аденоматозным полипозом (САП) — наследственным заболеванием толстого кишечника, приводящим к развитию рака толстой кишки. Наибольшая доля случаев возникновения САП является следствием мутаций в гене, отвечающем за развитие полипоза толстого кишечника, или APC (*adenomatous polyposis coli gene*). В 10–15% случаев у пациентов с САП обнаруживают ДФ. Риск развития ДФ у пациентов с САП составляет 2,56 случаев на 1000 пациентов в год, что в 852 раза выше, чем в общей популяции [2]. В отличие от спорадических ДФ, САП-ассоциированные ДФ в 80% случаев интраабдоминальные. Десмоидный фиброматоз преимущественно встречается у женщин и может манифестировать в любом возрасте, но чаще ДФ развиваются в возрасте 30–40 лет. В большинстве случаев САП-ассоциированные ДФ возникают в течение 5 лет после перенесенной операции [4].

Природа возникновения спорадических ДФ неясна. У пациентов с этим заболеванием были описаны случаи выявления соматических мутаций в гене APC, но чаще всего такие мутации обнаруживают в гене  $\beta$ -катенина [5–6], который задействован в Wnt-сигнальном пути. Мутации в гене CTNNB1 (ген  $\beta$ -катенина) приводят к накоплению продукта этого гена в ядре фибробластов, что, в свою очередь, нарушает путь дифференцировки клетки и межклеточные взаимосвязи [7].

Генетические причины возникновения ДФ и их связь с клиническими проявлениями этого заболевания в настоящее время недостаточно изучены. Поскольку ДФ с высокой частотой возникают при САП, естественным кандидатом, обуславливающим предрасположенность и к спорадическим случаям ДФ, выступает ген APC. Однако данные мировой литературы по исследованию герминальных мутаций в гене APC при спорадических случаях ДФ пока немногочисленны [8, 9].

Целью работы было изучить выборку пациентов со спорадическими случаями ДФ, не имевших признаков аденоматозного полипоза и родственников, страдающих САП и ДФ, и определить возможную значимость герминальных мутаций гена APC у таких пациентов. Для сравнения было решено отдельно исследовать молекулярные характеристики гена APC среди пациентов с ДФ при САП.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили в лаборатории молекулярной генетики СЗ ФГБНУ «МГНЦ им. Н. П. Бочкова» с 2012 по 2017 г. Изучали две выборки пациентов. Первая выборка состояла из 51 человека с ДФ (21 мужчина, 30 женщин) в возрасте от месяца до 60 лет (см. рис.); медиана составила 16,8 лет. Образцы крови получили от пациентов, обратившихся в МНИОИ им. П. А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. Критерии включения пациентов в исследование: наличие основного диагноза ДФ; отсутствие на момент проведения исследования характерных жалоб со стороны желудочно-кишечного тракта, позволяющих заподозрить диффузный полипоз толстой кишки; отсутствие семейной истории САП; отсутствие случаев возникновения ДФ у родственников. Таким образом, все случаи ДФ в этой выборке рассматривали как спорадические.

Десмоидные опухоли имели различную локализацию (на спине, в области грудной и брюшной стенок, на конечностях, интраабдоминально). У 11 пациентов наблюдали мультифокальный рост ДФ (см. раздел «Результаты исследования»). У части пациентов ДФ рецидивировали.

При исследовании 65 пациентов с САП (образцы крови получили из Государственного научного центра колопроктологии им. А. Н. Рыжих) была сформирована вторая выборка, в которую вошли 12 человек: 2 мужчин и 10 женщин. Возраст возникновения ДФ у больных варьировал от 24 до 57 лет; медиана составила 32,5 лет. Критерии включения в исследование: наличие полипоза

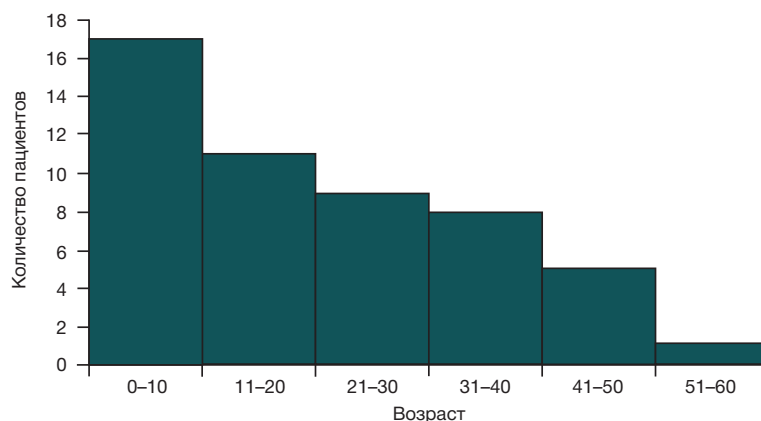


Рис. Распределение больных со спорадическими ДФ по возрасту

толстой кишки; наличие ДФ. Наследственность по САПотягощена у 8 человек. У четверых пациентов семейная история не прослежена. Все ДФ возникли после проведения оперативного вмешательства и были локализованы на передней брюшной стенке или интраабдоминально, преимущественно являлись единичными.

Определение мутаций в гене *APC* проводили в ДНК, выделенной из периферической крови больных. ДНК получали из лейкоцитов периферической крови стандартным фенол-хлороформным методом [10]. Анализ гена *APC* на наличие мутаций проводили согласно литературным данным [11]. Кодировочные экзоны гена *APC* амплифицировали при помощи экзон-специфичных праймеров. ПЦР-продукты исследовали конформационно-чувствительным электрофорезом в полиакриламидном геле (окрашивание серебром). Изменение первичной структуры гена дополнительно исследовали секвенированием по Сэнгеру с использованием набора Big Dye™ Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing и ДНК-анализатора ABI Prism 3130x1 (Applied Biosystems; США). Хроматограммы интерпретировали при помощи ChromasPro и интернет-ресурсов NCBI BLAST и Ensembl genome browser 91. В качестве образца сравнения использовали референсную последовательность гена *APC* NM\_000038.6.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft; USA).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Молекулярный анализ гена *APC* проводили у 51 пациента со спорадическими ДФ. В 6 случаях (12%) выявлены герминальные мутации в гене *APC*. Обнаруженные мутации в гене *APC*, возраст пациентов на момент постановки диагноза, количество (единичные, мультифокальные) и локализация ДФ представлены в табл. 1.

Из 6 выявленных нами мутаций 2 мутации являются новыми: с.4386-4390 delGAGAG (1462delGAGAG) и с.4575insT (1525insT). Обе указанные новые мутации приводят к сдвигу рамки считывания с преждевременным образованием стоп-кодона и, следовательно, являются патогенными.

Мутация с.4575insT обнаружена у пациентки № 1 (табл. 1). По клиническим данным отмечали тяжелое течение ДФ с ранней манифестацией (9 лет) и мультифокальным ростом ДФ. В возрасте 19 лет при эндоскопическом обследовании толстой кишки полипоз не выявлен.

Пациент № 2 имеет мутацию с.4386-4390 delGAGAG (табл. 1). Манифестация заболевания у него была отмечена в возрасте 1 месяц. С раннего детства наблюдали мультифокальный рост ДФ грудной стенки. К возрасту 18 лет пациент перенес 5 операций, курсы химиотерапии, гормональной и лучевой терапии без

стабилизации процесса. Таким образом, заболевание можно охарактеризовать крайне тяжелым течением и устойчивостью к терапии. Мутация с.4386-4390 delGAGAG (1462delGAGAG) не выявлена в других популяциях [12–14]. Мутация возникла *de novo*, так как в крови матери и отца пациента не была обнаружена. Чувствительность использованного метода определения мутаций позволяет выявить 1–5% мутантных аллелей, что указывает на малую вероятность мозаицизма у одного из родителей [15].

У 3 пациентов, не являющихся родственниками, была обнаружена одна и та же мутация — с.4393-4394 delAG (1465delAG). Несмотря на идентичность нарушения на уровне ДНК, клиническая картина имела различия. Среди этих пациентов — молодая женщина (28 лет) с дебютом заболевания в 17 лет. Отмечалось мультифокальное поражение грудной и брюшной стенок и интраабдоминальный рост ДФ. Признаков полипоза толстой кишки к возрасту 28 лет по результатам колоноскопии не обнаружено. Ту же самую мутацию имели еще 2 пациента: мальчик, у которого в области грудной стенки и поясницы были обнаружены множественные десмоиды при рождении, и девочка, у которой в возрасте 2 лет на спине развилась единичная ДФ. Обращает на себя внимание, что при одной мутации возраст начала заболевания, локализация и количество ДФ у всех 3 больных были различными. Различия в локализации ДФ, возможно, обусловлены разницей в возрасте больных, и, по мере взросления, не исключена вероятность развития мультифокального поражения грудной и брюшной стенок у всех больных с этой мутацией. Не исключено также, что на течение заболевания, обусловленного одной и той же мутацией, оказывают влияние факторы окружающей среды и различие генотипов больных.

У пациента с мутацией с.4348C/T; p.R1450X был отмечен мультифокальный рост ДФ с 15-летнего возраста. После неоднократного хирургического лечения и курсов химио- и гормональной терапии была достигнута стабилизация процесса.

У всех 6 пациентов этой группы была отмечена ранняя манифестация заболевания. Основное число больных (5 из 6) имели характерный фенотип в виде множественного роста узлов опухоли, плохо поддающихся лечению. Несмотря на проводившуюся терапию у 3 пациентов группы (50%) прогноз был неблагоприятным. Из 6 пациентов с мутацией в гене *APC* у 3 наблюдали тяжелое течение заболевания, что чаще, чем среди пациентов без герминальной мутации в этом гене (2 из 45). Это различие статистически значимо ( $p = 0,01$ ).

Возраст возникновения ДФ среди пациентов с мутацией в гене *APC* варьировал от месяца до 17 лет (табл. 1); медиана составила 5,8 года. В то же время у пациентов без мутаций этот возраст варьировал от 1 месяца до 60 лет (см. рис. 1); медиана — 19 лет. Различие значений медиан статистически значимо ( $p = 0,022$ ; *U*-тест).

**Таблица 1.** Мутации в гене *APC* у пациентов со спорадическим десмоидным фиброматозом

№	Локализация ДФ	Наименование мутации в гене <i>APC</i>	Возраст возникновения первой ДФ
1	Мультифокальный рост, грудная и брюшная стенки	с.4575insT (1525insT)	9 лет
2	Мультифокальный рост, грудная и брюшная стенки	с.4386-4390 delGAGAG (1462delGAGAG)	2 месяца
3	Мультифокальный рост, грудная стенка, поясничная область	R1450X (с.4348C/T)	15 лет
4	Мультифокальный рост, грудная и брюшная стенки, интраабдоминально	с.4393-4394 delAG (1465delAG)	17 лет
5	Мультифокальный рост, грудная стенка, поясничная область	с.4393-4394 delAG (1465delAG)	1 месяц
6	На спине	с.4393-4394 delAG (1465delAG)	2 года

Все мутации в гене APC были обнаружены у больных с локализацией ДФ на туловище (6 пациентов с мутацией из 26 пациентов с локализацией ДФ на туловище, что составляет 23%) и отсутствовали при других локализациях ДФ (табл. 2). Частота мутаций в гене APC при локализации опухоли на туловище значимо выше, чем при других локализациях ДФ ( $p = 0,023$ ). Этот феномен не обусловлен преимущественным накоплением множественных ДФ на туловище в целом (что могло бы указывать на случайное накопление при мутациях), так как их частота на туловище не была значимо выше по отношению к другим локализациям ДФ (табл. 2;  $p = 0,17$ ).

Из 51 пациента множественные ДФ имели 11 человек. У пяти из них обнаружены герминальные мутации в гене APC, что составило 45% (табл. 2). В группе пациентов без мультифокального роста ДФ (40 человек) был обнаружен только один случай с мутацией в гене APC (1/40, или 2,5%). Различие этих частот статистически значимо ( $p = 0,001$ ). На ассоциацию мутаций с множественными ДФ указывает также значение отношения шансов ( $OR = 32,5$ ; 95% CI: 3,22–326,31). Следовательно, мутации в этом гене преимущественно встречаются у пациентов с множественными ДФ.

Таким образом, мутации в гене APC были связаны с локализацией ДФ на туловище и их преимущественно мультифокальным ростом (табл. 2).

Столь значительное количество мутаций (12%) среди спорадических случаев ДФ без признаков и (или) семейной истории САП ставит вопрос о возможном различии мутаций в гене APC при САП и при спорадических ДФ. Все выявленные мутации в группе пациентов со спорадическими ДФ были локализованы на 3'-конце от кодона 1444 гена APC.

В связи с этим была изучена выборка пациентов с САП и ДФ. Из 65 пациентов с САП у 12 человек полипоз толстого кишечника сопровождали ДФ. Герминальные

мутации в гене APC были обнаружены у 6 человек из 12 пациентов с САП и ДФ (табл. 3).

Различий в клинической картине фиброматоза у пациентов с САП при мутациях и без мутаций в гене APC выявлено не было. Возраст возникновения ДФ среди пациентов с САП и мутацией в гене APC варьировал от 28 до 57 лет (табл. 3), медиана составила 35,5 года, что не отличается значимо от среднего значения у пациентов без мутаций — 29 лет (диапазон 24–36 лет).

Ни один пациент с САП и ДФ не имел мутацию в гене APC на 3'-конце от кодона 1444 гена APC (табл. 3). При спорадических случаях ДФ все найденные мутации располагались ближе к 3'-концу от кодона 1444 (табл. 1). Различия в локализации мутаций при спорадических и связанных с САП ДФ статистически значимо ( $p = 0,0022$ ,  $OR = 144$ ; 95% CI: 2,43–8517,50), т. е. для спорадических случаев ДФ характерно более частое расположение мутаций на 3'-конце гена APC по сравнению с ДФ при САП.

Следует отметить более ранний возраст начала заболевания при мутациях в гене APC среди спорадических ДФ по отношению к ДФ при САП — медианы 5,8 года и 35,5 года соответственно ( $p = 0,004$ ;  $U$ -тест). Статистически значимых различий в возрасте манифестации заболевания у пациентов без мутаций при спорадических и ассоциированных с САП ДФ выявлено не было ( $p = 0,09$ ).

Случаи мультифокального ДФ у больных с мутацией в гене APC чаще выявлены среди пациентов со спорадическим ДФ (5/6), нежели у пациентов с САП (0/6) —  $OR = 60$ ; 95% CI: 1,64–2187,79;  $p = 0,015$ .

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящей работе изучены герминальные мутации в гене APC у 51 пациента со спорадическим десмоидным фиброматозом. У всех пациентов выборки отсутствовали

**Таблица 2.** Связь мутаций в гене APC с различной локализацией и количеством ДФ

Локализация десмоидных опухолей	Больные с десмоидным фиброматозом		Больные с десмоидным фиброматозом с развитием мультифокальных опухолей	
	Число пациентов	Из них с мутациями в гене APC	Число пациентов	Из них с мутациями в гене APC
Грудная и/или брюшная стенка	26	6	8	5
Интраабдоминально	3	–	–	–
Конечности	14	–	3	–
Другая локализация	8	–	–	–
Всего	51		11	

**Таблица 3.** Характеристика мутаций в гене APC и клинические показатели пациентов с ДФ при САП

№	Наименование мутации	Характеристика ДФ	Возраст, годы
1	c.3464-3468 delAAGAA (1155del5)	Десмоид корня брыжейки послеоперационный	57
2	c.3927-3921delAAAGA (1309del5)	Десмоид в послеоперационном рубце	28
3	c.3930insA (1310insA)	Десмоид корня брыжейки послеоперационный	34
4	c.3183-3187 delACAAA (1061del5)	Десмоид корня брыжейки послеоперационный	38
5	c.2274-2278 delAGCCC p.K758Nfs (758-760 delAGCCC)	Десмоид брюшной стенки послеоперационный	30
6	3496delT (1166delT)	Десмоид брюшной стенки	33
7	–	Десмоид брюшной стенки послеоперационный	33
8	–	Десмоид корня брыжейки послеоперационный	29
9	–	Десмоид корня брыжейки послеоперационный	29
10	–	Десмоид брюшной стенки послеоперационный	29
11	–	Десмоид брюшной стенки	24
12	–	Десмоид брюшной стенки послеоперационный	36



симптомы и семейный анамнез САП. У 6 человек (12%) из этой выборки впервые были найдены патогенные мутации, две из которых (1525insT и 1462delGAGAG) до настоящего времени не были описаны. Ранее мутации в гене *APC* анализировали на выборках, включавших как спорадические ДФ, так и ассоциированные с САП. Мутации были выявлены только у больных с САП; среди пациентов со спорадическим ДФ мутации не были обнаружены. Это может быть связано как с задачами исследования, так и с характерными особенностями выборки. Так, в одном из исследований присутствовал только один случай множественных ДФ [16].

Ранняя манифестация десмоидного фиброматоза встречается во врачебной практике очень редко и в литературе ее обсуждают в основном как клинический случай [17, 18]. В нашей выборке пациентов со спорадическими ДФ и мутацией в гене *APC* зарегистрировано 3 случая с ранней манифестацией заболевания (двум пациентам диагноз поставлен в возрасте 1 и 2 месяцев, и одному ребенку — в 2 года).

Все мутации в гене *APC* у больных со спорадическими ДФ были локализованы на 3'-конце от кодона 1444 и ассоциированы с тяжелым течением заболевания в виде мультифокальных ДФ и ранней манифестации (медиана возраста начала заболевания составила 5,8 года, в отличие от значения, полученного среди больных ДФ без мутаций, и составившего 19 лет). Также все ДФ у пациентов с мутацией в *APC* были локализованы на туловище, хотя в целом при десмоидном фиброматозе локализация на туловище не была значимо выше, чем другие локализации (см. табл. 2;  $p = 0,17$ ). Эти наши данные получены впервые. В литературе описаны семьи с наследственной десмоидной болезнью. Например, есть сообщение о семье, где в трех поколениях родственники наследуют десмоидные опухоли. Десмоидный фиброматоз у них связан с мутацией сдвига рамки считывания в кодоне 1924 гена *APC*. У больных членов семьи наблюдаются множественные ДФ различной локализации как экстраабдоминальные, так и интраабдоминальные. Возраст возникновения ДФ варьирует от рождения до 10–20 лет жизни. Из 9 больных ДФ в этой семье полипоз либо рак толстой кишки был зафиксирован у троих человек. Другие немногочисленные случаи описания семей с наследственным десмоидным фиброматозом также связаны с мутациями в гене *APC* на 3'-конце от кодона 1444, характеризуются возникновением множественных ДФ и тяжелым течением заболевания [19, 20].

Также было интересно сравнить выявленные характеристики мутаций и фенотипические особенности спорадических ДФ с таковыми при САП. Данные о связи генотипа с клинической картиной САП, полученные в разных работах, различаются. Так, в одной работе связи с локализацией мутации в гене *APC* и развитием ДФ у больных с САП выявлено не было [21], в другой из 14 пациентов с САП и ДФ только у двоих мутация была расположена на 3'-конце от кодона 1444 [22], что может быть обусловлено популяционными особенностями. Была изучена российская выборка САП. Среди 65 больных с САП 12 имели ДФ (18%). Данное значение близко к значениям, полученным в других работах: по одним данным оно составило 3,5–32% [23], по другим — 10–15% [24]. У половины пациентов с САП и ДФ из нашей выборки были обнаружены мутации в гене *APC*. Все найденные 6 мутаций были локализованы на 5'-конце от кодона 1444. Различие в частотах расположения мутаций относительно кодона 1444 при спорадических ДФ и ассоциированных

с САП статистически значимо ( $p = 0,002$ ). Мы сравнили частоты мутаций относительно кодона 1444 при ДФ, ассоциированных с САП, полученные в нашей работе с аналогичными частотами, полученными на объединенной выборке больных с САП из нескольких стран [25]. Указанные частоты статистически значимо не различались ( $p = 0,34$ ). В то же время, полученные нами частоты расположения мутаций относительно кодона 1444 при спорадических ДФ отличались также от частот при ДФ, ассоциированных с САП, полученных другими исследователями ( $p = 0,0002$ ) [25]. Следовательно, спорадические ДФ обусловлены мутациями, локализованными на 3'-конце от 1444 кодона, чаще, чем десмоидные опухоли, ассоциированные с САП.

У пациентов с САП в нашей выборке первичных ДФ обнаружено не было: все десмоидные опухоли возникли после операции и были локализованы внутрибрюшинно либо на брюшной стенке. Такие же особенности течения ДФ у пациентов с САП были отмечены и в других исследованиях [26, 27].

Спорадические ДФ при мутациях в гене *APC* были преимущественно мультифокальными и локализованы в области грудной и (или) брюшной стенки. Интраабдоминальная локализация ДФ характерна для САП и существенно реже встречается при спорадических ДФ [25]. Вероятнее всего, абдоминальная локализация ДФ при САП обусловлена травмированием тканей при проведении оперативного вмешательства на органах брюшной полости [28]. Напротив, при спорадических ДФ с мутациями в гене *APC* прямой связи с травмой не наблюдалось.

Медианы возраста развития ДФ у больных с мутациями и без мутаций не отличались в нашей выборке с САП, в то время как возраст манифестации заболевания при спорадических ДФ у больных с герминальными мутациями в *APC* был существенно ниже. Следует отметить, что возрасты диагноза спорадических и САП-ассоциированных ДФ у пациентов без мутаций статистически значимо не различались ( $p = 0,09$ ).

Эти данные указывают на существенные различия клинических картин развития спорадических ДФ и ДФ, ассоциированных с САП, среди больных с мутацией в гене *APC*, связанные, по крайней мере частично, с положением мутации в этом гене.

Таким образом, в выборке больных со спорадическими ДФ выявлена группа больных с особенностями течения заболевания, обусловленными герминальной мутацией в гене *APC*. Для таких пациентов характерны: мультифокальный рост ДФ, ранняя манифестация, тяжелое течение, неэффективность проводимой терапии и, как следствие, неблагоприятный прогноз заболевания. Существуют молекулярные особенности, связанные с вышеописанной клинической картиной. Мутация в этих случаях локализована на 3'-конце гена *APC*.

Полученная информация существенна для выбора тактики лечения таких больных и мер профилактики полипоза, а также открывает возможности изучения механизмов, приводящих к развитию мультифокальных ДФ, но не САП.

## ВЫВОДЫ

Среди больных с ДФ без семейной истории аденоматозного полипоза обнаружен подтип с герминальными мутациями в гене *APC* и фенотипическими особенностями. Больные



с мутациями имеют фенотип, отличающий их от больных с ДФ без мутаций, — более ранний возраст возникновения ДФ, как правило, множественных и располагающихся на туловище. По этим характеристикам больные со спорадическими ДФ с мутациями отличаются и от больных с ДФ при САП, также с герминальными мутациями в гене *APC*. При этом для спорадических ДФ характерно более частое

расположение мутаций на 3'-конце гена *APC*. Полученные результаты следует учитывать при лечении больных с ДФ и разработке подходов к профилактике как ДФ, так и САП. Они также создают возможности для исследования молекулярных механизмов, приводящих в результате мутаций в гене *APC* к первичному возникновению ДФ, а не САП.

## Литература

1. Глебовская В. В. Терморрадиотерапия больных с первичным и рецидивным экстраабдоминальным десмоидом [диссертация]. М., 2004.
2. Eastley N, McCulloch T, Esler C, Hennig I, Fairbairn J, Gronchi A, et al. Extra-abdominal desmoid fibromatosis: A review of management, current guidance and unanswered questions. *Eur J Surg Oncol*. 2016; 42 (7): 1071–83. DOI: 10.1016/j.ejso.2016.02.012.
3. Ткачев С. И., Алиев М. Д., Глебовская В. В. и др. Применение терморрадиотерапии у больных первичными и рецидивными экстраабдоминальными десмоидными опухолями. *Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи*. 2009; (1): 34–7.
4. DE Marchis ML, Tonelli F, Quaresmini D, Lovero D, Della-Morte D, Silvestris F, et al. Desmoid Tumors in Familial Adenomatous Polyposis. *Anticancer Res*. 2017 Jul; 37 (7): 3357–66.
5. Mullen JT, DeLaney TF, Rosenberg AE, Le L, Iafrate AJ, Kobayashi W, et al.  $\beta$ -Catenin mutation status and outcomes in sporadic desmoid tumors. *Oncologist*. 2013; 18 (9): 1043–9. DOI: 10.1634/theoncologist.2012-0449.
6. Alman BA, Li C, Pajerski ME, Diaz-Cano S, Wolfe HJ. Increased beta-catenin protein and somatic APC mutations in sporadic aggressive fibromatoses (desmoid tumors). *Am J Pathol*. 1997; 151 (2): 329–34. PubMed PMID: 9250146; PubMed Central PMCID: PMC1857985.
7. Никулин М. П., Петросян А. П., Цымжитова Н. Ц., Губина Г. И. Забрюшинные десмоиды: аналитический обзор и случай из практики. *Клиническая и экспериментальная хирургия*. 2015; (4): 103–12.
8. Koskenvuo L, Peltomäki P, Renkonen-Sinisalo L, Gylling A, Nieminen TT, Ristimäki A, et al. Desmoid tumor patients carry an elevated risk of familial adenomatous polyposis. *J Surg Oncol*. 2016; 113 (2): 209–12. DOI: 10.1002/jso.24117.
9. Brueckl WM, Ballhausen WG, Förtsch T, Günther K, Fiedler W, Gentner B, et al. Genetic testing for germline mutations of the APC gene in patients with apparently sporadic desmoid tumors but a family history of colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum*. 2005; 48 (6): 1275–81. DOI: 10.1007/s10350-004-0949-5.
10. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual*, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, 1989; 1546 p.
11. Музаффарова Т. А., Мансорунов Д. Ж., Сачков И. Ю., Кузеванова А. Ю., Карпухин А. В., Алимов А. А. Молекулярно-генетические аспекты риска семейного аденоматозного полипоза. *Молекулярная медицина*. 2018; 16 (6): 60–4. DOI: <https://doi.org/10.29296/24999490-2018-06-11>.
12. The Human Gene Mutation Database (HGMD®). Available from: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>.
13. Ensembl Genome Browser 96. Available from: <http://www.ensembl.org/index.html>.
14. LOVD database. Available from: <https://www.lovd.nl/>.
15. Hes FJ, Nielsen M, Bik EC, Konvalinka D, Wijnen JT, Bakker E, et al. Somatic APC mosaicism: an underestimated cause of polyposis coli. *Gut*. 2008; 57 (1): 71–6. DOI: 10.1136/gut.2006.117796.
16. Kattentidt Mouravieva AA, Geurts-Giele IR, de Krijger RR, van Noesel MM, van de Ven CP, van den Ouweland, et al. Identification of Familial Adenomatous Polyposis carriers among children with desmoid tumours. *Eur J Cancer*. 2012 Aug; 48 (12): 1867–74. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.01.004.
17. Dalit A, Karen M, Alexander M. Congenital desmoid tumor of the cheek: a clinicopathological case report. *Eplasty*. 2009 Nov 10; (9): e52. PubMed PMID: 20011031; PubMed Central PMCID: PMC2779781.
18. Roggli VL, Kim HS, Hawkins E. Congenital generalized fibromatosis with visceral involvement. A case report. *Cancer*. 1980; (45): 954–60.
19. Halling KC, Lazzaro CR, Honchel R, Bufile JA, Powell SM, Arndt CAS, et al. Hereditary Desmoid Disease in a Family with a Germline Alu I Repeat Mutation of the APC Gene. *Hum Hered*. 1999; (49): 97–102. DOI: 10.1159/000022852.
20. Eccles DM, van der Luijt R, Breukel C, Bullman H, Bunyan D, Fisher A, et al. Hereditary desmoid disease due to a frameshift mutation at codon 1924 of the APC gene. *Am J Hum Genet*. 1996; 59 (6): 1193–201. PMCID: PMC1914868; PMID: 8940264.
21. Nieuwenhuis MH, De Vos Tot Nederveen Cappel W, Botma A, Nagengast FM, Kleibeuker JH, Mathus-Vliegen EM, et al. Desmoid tumors in a dutch cohort of patients with familial adenomatous polyposis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008; 6 (2): 215–9. DOI: 10.1016/j.cgh.2007.11.011.
22. Torrezan GT, da Silva FC, Santos EM, Krepschi AC, Achatz MI, Aguiar S Jr, et al. Mutational spectrum of the APC and MUTYH genes and genotype-phenotype correlations in Brazilian FAP, AFAP, and MAP patients. *Orphanet J Rare Dis*. 2013; (8): 54. DOI: 10.1186/1750-1172-8-54.
23. Fallen T, Wilson M, Morlan B, Lindor NM. Desmoid tumors — a characterization of patients seen at Mayo Clinic 1976–1999. *Fam Cancer*. 2006; 5 (2): 191–4. DOI: 10.1007/s10689-005-5959-5.
24. Lips DJ, Barker N, Clevers H, Hennipman A. The role of APC and beta-catenin in the aetiology of aggressive fibromatosis (desmoid tumors). *Eur J Surg Oncol*. 2009 Jan; 35 (1): 3–10. DOI: 10.1016/j.ejso.2008.07.003.
25. Nieuwenhuis MH, Lefevre JH, Bülow S, Järvinen H, Bertario L, Kernéis S, et al. Family history, surgery, and APC mutation are risk factors for desmoid tumors in familial adenomatous polyposis: an international cohort study. *Dis Colon Rectum*. 2011; 54 (10): 1229–34. DOI: 10.1097/DCR.0b013e318227e4e8.
26. Nieuwenhuis MH, Lefevre JH, Bülow S, Järvinen H, Bertario L, Kernéis S, et al. A nation-wide study comparing sporadic and familial adenomatous polyposis-related desmoid-type fibromatoses. *Dis Colon Rectum*. 2011 Oct; 54 (10): 1229–34. DOI: 10.1002/jc.25664.
27. Koskenvuo L, Ristimäki A, Lepistö A. Comparison of sporadic and FAP-associated desmoid-type fibromatoses. *J Surg Oncol*. 2017 Nov; 116 (6): 716–21. DOI: 10.1002/jso.24699.
28. Nieuwenhuis MH, De Vos Tot Nederveen Cappel W, Botma A, Nagengast FM, Kleibeuker JH, Mathus-Vliegen EM, et al. Desmoid tumors in a dutch cohort of patients with familial adenomatous polyposis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008 Feb; 6 (2): 215–9. DOI: 10.1016/j.cgh.2007.11.011.

## References

- Glebovskaja VV. Thermoradiotherapy of patients with primary and recurrent extraabdominal desmoid [dissertation]. M., 2004
- Eastley N, McCulloch T, Esler C, Hennig I, Fairbairn J, Gronchi A, et al. Extra-abdominal desmoid fibromatosis: A review of management, current guidance and unanswered questions. *Eur J Surg Oncol*. 2016; 42 (7): 1071–83. DOI: 10.1016/j.ejso.2016.02.012.
- Tkashev SI, Aliev MD, Glebovskaja VV, et al. The use of thermoradiotherapy in patients with primary and recurrent spastic-dominant desmoid tumors. *Sarcomas of bones, soft tissues and skin tumors*. 2009; (1): 34–7.
- DE Marchis ML, Tonelli F, Quaresmini D, Lovero D, Della-Morte D, Silvestris F, et al. Desmoid Tumors in Familial Adenomatous Polyposis. *Anticancer Res*. 2017 Jul; 37 (7): 3357–66.
- Mullen JT, DeLaney TF, Rosenberg AE, Le L, Iafrate AJ, Kobayashi W, et al.  $\beta$ -Catenin mutation status and outcomes in sporadic desmoid tumors. *Oncologist*. 2013; 18 (9): 1043–9. DOI: 10.1634/theoncologist.2012-0449.
- Alman BA, Li C, Pajerski ME, Diaz-Cano S, Wolfe HJ. Increased beta-catenin protein and somatic APC mutations in sporadic aggressive fibromatoses (desmoid tumors). *Am J Pathol*. 1997; 151 (2): 329–34. PubMed PMID: 9250146; PubMed Central PMCID: PMC1857985.
- Nikulin MP, Petrosyan AP, Tsymzhitova NTs, Gubina GI. Retroperitoneal desmoids: analytical review and case report. *Clin Experiment Surg*. 2015; (4): 103–12.
- Koskenvuo L, Peltomäki P, Renkonen-Sinisalo L, Gylling A, Nieminen TT, Ristimäki A, et al. Desmoid tumor patients carry an elevated risk of familial adenomatous polyposis. *J Surg Oncol*. 2016; 113 (2): 209–12. DOI: 10.1002/jso.24117.
- Brueckl WM, Ballhausen WG, Förtsch T, Günther K, Fiedler W, Gentner B, et al. Genetic testing for germline mutations of the APC gene in patients with apparently sporadic desmoid tumors but a family history of colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum*. 2005; 48 (6): 1275–81. DOI: 10.1007/s10350-004-0949-5.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, 1989; 1546 p.
- Muzaffarova TA, Mansorunov DJ, Sachkov IY, Kuzevanova AY, Karpukhin AV, Alimov AA. Molecular genetic aspects of the risk for family adenomatous polyposis. *Molecular medicine*. 2018; 16 (6): 60–64.
- The Human Gene Mutation Database (HGMD®). Available from: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>.
- Ensembl Genome Browser 96. Available from: <http://www.ensembl.org/index.html>.
- LOVD database. Available from: <https://www.lovd.nl/>.
- Hes FJ, Nielsen M, Bik EC, Konvalinka D, Wijnen JT, Bakker E, et al. Somatic APC mosaicism: an underestimated cause of polyposis coli. *Gut*. 2008; 57 (1): 71–6. DOI: 10.1136/gut.2006.117796.
- Kattentidt Mouravieva AA, Geurts-Giele IR, de Krijger RR, van Noesel MM, van de Ven CP, van den Ouweland, et al. Identification of Familial Adenomatous Polyposis carriers among children with desmoid tumours. *Eur J Cancer*. 2012 Aug; 48 (12): 1867–74. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.01.004
- Dalit A, Karen M, Alexander M. Congenital desmoid tumor of the cheek: a clinicopathological case report. *Eplasty*. 2009 Nov 10; (9): e52. PubMed PMID: 20011031; PubMed Central PMCID: PMC2779781.
- Roggli VL, Kim HS, Hawkins E. Congenital generalized fibromatosis with visceral involvement. A case report. *Cancer*. 1980; (45): 954–60.
- Halling KC, Lazzaro CR, Honchel R, Bufile JA, Powell SM, Arndt CAS, et al. Hereditary Desmoid Disease in a Family with a Germline Alu I Repeat Mutation of the APC Gene. *Hum Hered*. 1999; (49): 97–102. DOI: 10.1159/000022852.
- Eccles DM, van der Luijt R, Breukel C, Bullman H, Bunyan D, Fisher A, et al. Hereditary desmoid disease due to a frameshift mutation at codon 1924 of the APC gene. *Am J Hum Genet*. 1996; 59 (6): 1193–201. PMCID: PMC1914868; PMID: 8940264.
- Nieuwenhuis MH, De Vos Tot Nederveen Cappel W, Botma A, Nagengast FM, Kleibeuker JH, Mathus-Vliegen EM, et al. Desmoid tumors in a dutch cohort of patients with familial adenomatous polyposis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008; 6 (2): 215–9. DOI: 10.1016/j.cgh.2007.11.011.
- Torrezan GT, da Silva FC, Santos EM, Krepischi AC, Achatz MI, Aguiar S Jr, et al. Mutational spectrum of the APC and MUTYH genes and genotype-phenotype correlations in Brazilian FAP, AFAP, and MAP patients. *Orphanet J Rare Dis*. 2013; (8): 54. DOI: 10.1186/1750-1172-8-54.
- Fallen T, Wilson M, Morlan B, Lindor NM. Desmoid tumors — a characterization of patients seen at Mayo Clinic 1976–1999. *Fam Cancer*. 2006; 5 (2): 191–4. DOI: 10.1007/s10689-005-5959-5.
- Lips DJ, Barker N, Clevers H, Hennipman A. The role of APC and beta-catenin in the aetiology of aggressive fibromatosis (desmoid tumors). *Eur J Surg Oncol*. 2009 Jan; 35 (1): 3–10. DOI: 10.1016/j.ejso.2008.07.003.
- Nieuwenhuis MH, Lefevre JH, Bülow S, Järvinen H, Bertario L, Kernéis S, et al. Family history, surgery, and APC mutation are risk factors for desmoid tumors in familial adenomatous polyposis: an international cohort study. *Dis Colon Rectum*. 2011; 54 (10): 1229–34. DOI: 10.1097/DCR.0b013e318227e4e8.
- Nieuwenhuis MH, Lefevre JH, Bülow S, Järvinen H, Bertario L, Kernéis S, et al. A nation-wide study comparing sporadic and familial adenomatous polyposis-related desmoid-type fibromatoses. *Dis Colon Rectum*. 2011 Oct; 54 (10): 1229–34. DOI: 10.1002/dcr.25664.
- Koskenvuo L, Ristimäki A, Lepistö A. Comparison of sporadic and FAP-associated desmoid-type fibromatoses. *J Surg Oncol*. 2017 Nov; 116 (6): 716–21. DOI: 10.1002/jso.24699.
- Nieuwenhuis MH, De Vos Tot Nederveen Cappel W, Botma A, Nagengast FM, Kleibeuker JH, Mathus-Vliegen EM, et al. Desmoid tumors in a dutch cohort of patients with familial adenomatous polyposis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008 Feb; 6 (2): 215–9. DOI: 10.1016/j.cgh.2007.11.011.

# ВЛИЯНИЕ НАРУШЕНИЙ КРОВотоКА И ЛИКВОРОТОКА ПО ДАННЫМ ФАЗОВО-КОНТРАСТНОЙ МРТ НА СОСТОЯНИЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ВОЗРАСТ-ЗАВИСИМОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ МИКРОАНГИОПАТИИ

Е. И. Кремнева<sup>1</sup>✉, Б. М. Ахметзянов<sup>2</sup>, Л. А. Добрынина<sup>1</sup>, М. В. Кротенкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научный центр неврологии, Москва, Россия

<sup>2</sup> ООО «ПЭТ-Технолоджи», Уфа, Россия

Метод фазово-контрастной МРТ (ФК-МРТ) головного мозга позволяет *in vivo* оценить показатели кровотока и ликворотока, что открывает новые возможности в исследовании механизмов развития и прогрессирования возраст-зависимой церебральной микроангиопатии (ЦМА). Целью работы было провести анализ значимости нарушений церебрального артериального, венозного кровотока и ликворотока в формировании МРТ-признаков ЦМА. Исследовали 96 больных с ЦМА ( $60,91 \pm 6,57$  лет) и 23 здоровых добровольца ( $59,13 \pm 6,56$  лет). Протокол МРТ включал в себя режимы T2, FLAIR, T1, SWI, ДВИ для оценки поражения головного мозга согласно стандартам STRIVE, а также ФК-МРТ с оценкой кровотока в магистральных артериях и венах шеи, в прямом и верхнем сагитальном синусах, ликворотока на уровне водопровода мозга. Проводили корреляцию линейных и объемных показателей кровотока и ликворотока с поражением вещества мозга в зависимости от степени тяжести изменений (шкала Фазекаса). Отмечено снижение tABF, stVBF, sssVBF, aqLF, Saq, ICC и повышение Pi по мере прогрессирования ГИБВ, постепенное снижение tABF и повышение Pi, Saq и ICC по мере увеличения числа лакун ( $p < 0,05$ ). Значения sssVBF и stVBF также достоверно снижались в группе ранних ( $< 5$ ) МКР по сравнению с больными без МКР, а aqLF, Saq, ICC увеличивались в группе больных с 5–10 МКР по сравнению с больными без МКР и ранними ( $< 5$ ) МКР. Установление связи изменений в артериальном, венозном кровотоке и ликворотоке с МРТ-проявлениями у больных ЦМА позволяет предполагать патогенетическую значимость в развитии ЦМА-механизмов, связанных с нарушением гомеостаза Монро–Келли.

**Ключевые слова:** фазово-контрастная МРТ, возраст-зависимая церебральная микроангиопатия, мозговой кровоток, ликвороток

**Финансирование:** работа выполнена в рамках государственного задания ФГБНУ НЦН.

**Информация о вкладе авторов:** Е. И. Кремнева — методика исследования, анализ и интерпретация данных, написание и оформление статьи; Б. М. Ахметзянов — сбор данных; обработка данных и их интерпретация; статистический анализ; Л. А. Добрынина — общая идея и методология исследования, интерпретация данных, сбор и анализ клинической части данных; М. В. Кротенкова — курирование исследования, методология исследования, интерпретация данных.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ Научный центр неврологии (протокол № 2–3/16 от 27 января 2016 г.). Все участники подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ Для корреспонденции: Елена Игоревна Кремнева  
Волоколамское шоссе, д. 80, г. Москва, 125367; kremneva@neurology.ru

Статья получена: 28.07.2019 Статья принята к печати: 12.08.2019 Опубликовано онлайн: 25.08.2019

DOI: 10.24075/vrgmu.2019.054

## ASSOCIATIONS BETWEEN BLOOD AND CEREBROSPINAL FLUID FLOW IMPAIRMENTS ASSESSED WITH PHASE-CONTRAST MRI AND BRAIN DAMAGE IN PATIENTS WITH AGE-RELATED CEREBRAL SMALL VESSEL DISEASE

Kremneva EI<sup>1</sup>✉, Akhmetzyanov BM<sup>2</sup>, Dobrynina LA<sup>1</sup>, Krotchenkova MV<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Center of Neurology, Moscow, Russia

<sup>2</sup> PET-Technology LLC, Ufa, Russia

Hemodynamic parameters of blood and cerebrospinal fluid (CSF) flow can be measured *in vivo* using phase-contrast MRI (PC-MRI). This opens new horizons for studying the mechanisms implicated in the development and progression of age-related cerebral small vessel disease (SVD). In this paper, we analyze associations between cerebral arterial, venous and CSF flow impairments and SVD features visible on MRI. The study was carried out in 96 patients with SVD (aged  $60.91 \pm 6.57$  years) and 23 healthy volunteers ( $59.13 \pm 6.56$  years). The protocol of the MRI examination included routine MRI sequences (T2, FLAIR, T1, SWI, and DWI) applied to assess the severity of brain damage according to STRIVE advisory standards and PC-MRI used to quantify blood flow in the major arteries and veins of the neck, the straight and upper sagittal sinuses, and CSF flow at the aqueduct level. We analyzed the associations between linear and volumetric parameters of blood/CSF flow and the degree of brain matter damage using the Fazekas scale. We observed a reduction in tABF, stVBF, sssVBF, aqLF, Saq, and ICC values and a rise in Pi associated with WMH progression, as well as a gradual decline in tABF and an increase in Pi, Saq and ICC associated with a growing number of lacunes ( $p < 0.05$ ). Patients with early ( $< 5$ ) MB had lower sssVBF and stVBF rates in comparison with patients without MB; aqLF, Saq, and ICC values were elevated in patients with 5 to 10 MB, as compared to patients without MB or early ( $< 5$ ) MB. The established associations between MRI findings in patients with SVD and blood/CSF flow impairments suggest the important role of mechanisms implicated in the disruption of Monro–Kellie intracranial homeostasis in promoting SVD.

**Keywords:** phase-contrast MRI, age-related small vessel disease, blood flow, CSF flow

**Funding:** this work was part of the state assignment for Research Center of Neurology.

**Author contribution:** Kremneva EI — methodology of the study, data analysis and interpretation, manuscript preparation; Akhmetzyanov BM — data acquisition, statistical processing and interpretation; Dobrynina LA — conception and methodology of the study, data interpretation, clinical data analysis and acquisition; Krotchenkova MV — study supervision and methodology, data interpretation.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Research Center of Neurology (Protocol № 2–3/16 dated January 27, 2016). Informed consent was obtained from all study participants.

✉ Correspondence should be addressed: Elena I. Kremneva  
Volokolamskoe shosse 80, Moscow, 125367; kremneva@neurology.ru

Received: 28.07.2019 Accepted: 12.08.2019 Published online: 25.08.2019

DOI: 10.24075/brsmu.2019.054

В настоящее время успехи МРТ-нейровизуализации обусловлены возможностью не только оценить мельчайшие анатомические структуры головного мозга, но и увидеть, как функционирует головной мозг, как изменяется его метаболизм, осуществляются его кровоснабжение и ликвороциркуляция. Одним из методов функциональной МР-визуализации является фазово-контрастная МРТ (ФК-МРТ), позволяющая одновременно получить информацию об артериальном, венозном кровотоках и ликворотоке. В классическом варианте при ФК-МРТ используют биполярные градиенты (одинаковой магнитуды, но противоположных направлений) с двойным сбором данных и последующей их субтракцией. При этом фазы стационарных спинов взаимно вычитаются и обнуляются, тогда как фазы движущихся спинов изменяются пропорционально скорости их перемещения, поскольку в движущихся средах магнитуда первого и второго градиентов не равны за счет пространственного смещения протонов; разница магнитуды обусловлена как раз скоростью перемещения протонов воды, что и дает возможность вычислять скоростные и прочие характеристики потока [1]. Синхронизируя импульсную последовательность с сердечным циклом, получают серию изображений, содержащую скоростную информацию, которая может быть соотнесена с фазами сердечного цикла. Таким образом, при одном сканировании получают фазовые и магнитудные изображения, содержащие и скоростные, и анатомические данные.

Наиболее широкое применение метод ФК-МРТ нашел в оценке ликворотока и его изменений при гидроцефалиях, включая оценку эффективности их хирургического лечения [2]. Однако возможность быстро, неинвазивно и независимо от исследователя оценить скоростные и объемные показатели артериального, венозного кровотоков и ликворотока и их временную взаимосвязь по отношению к фазам сердечного цикла, а также возможность исследования функциональных свойств артерий, вен и синусов, ликворных пространств, определяющих внутричерепной комплаенс [3], делает метод оптимальным инструментом для изучения заболеваний ЦНС, в основе которых может лежать нарушение баланса указанных интракраниальных компонентов. Одной из таких болезней является церебральная микроангиопатия (ЦМА), или болезнь мелких сосудов, под которой понимают совокупность нейровизуализационных, морфологических и ассоциированных с ними клинических признаков, обусловленных поражением мелких артерий, артериол, капилляров и венул [4]; в России входит в более широкое понятие дисциркуляторной энцефалопатии (ДЭП) [5]. Социальная значимость ЦМА крайне велика: с ней связано не менее 20% всех случаев инсультов и 45% деменций [6]. Несмотря на единодушное признание в мире ведущей роли артериальной гипертензии (АГ) и возраста в развитии ЦМА [4], значительно число случаев развития данной патологии у лиц старшего возраста и пожилых с отсутствием АГ или неоднозначности их причинно-следственных связей [7]. Подобные наблюдения инициировали исследования роли иных факторов риска и патофизиологических механизмов развития ЦМА [6], таких как ранняя дисфункция эндотелия с повышением проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и развитием вазогенного отека коры и повреждения белого вещества головного мозга, что, в свою очередь, приводит к нарушению вено- и ликвороциркуляции у этих пациентов [8]. Исследований по изучению значимости нарушений кровотока и ликворотока в поражении мозга у больных с

ЦМА разной степени выраженности до настоящего времени практически не проводилось. Уточнение патогенетической значимости данного механизма повреждения мозга может стать основой принципиально новых подходов к ведению и лечению больных с ЦМА, а метод ФК-МРТ, как уже было указано, оптимален для этой задачи, поэтому и был использован в нашем исследовании. Целью данной работы было провести анализ значимости нарушений церебрального артериального, венозного кровотоков и ликворотока в формировании МРТ-признаков ЦМА.

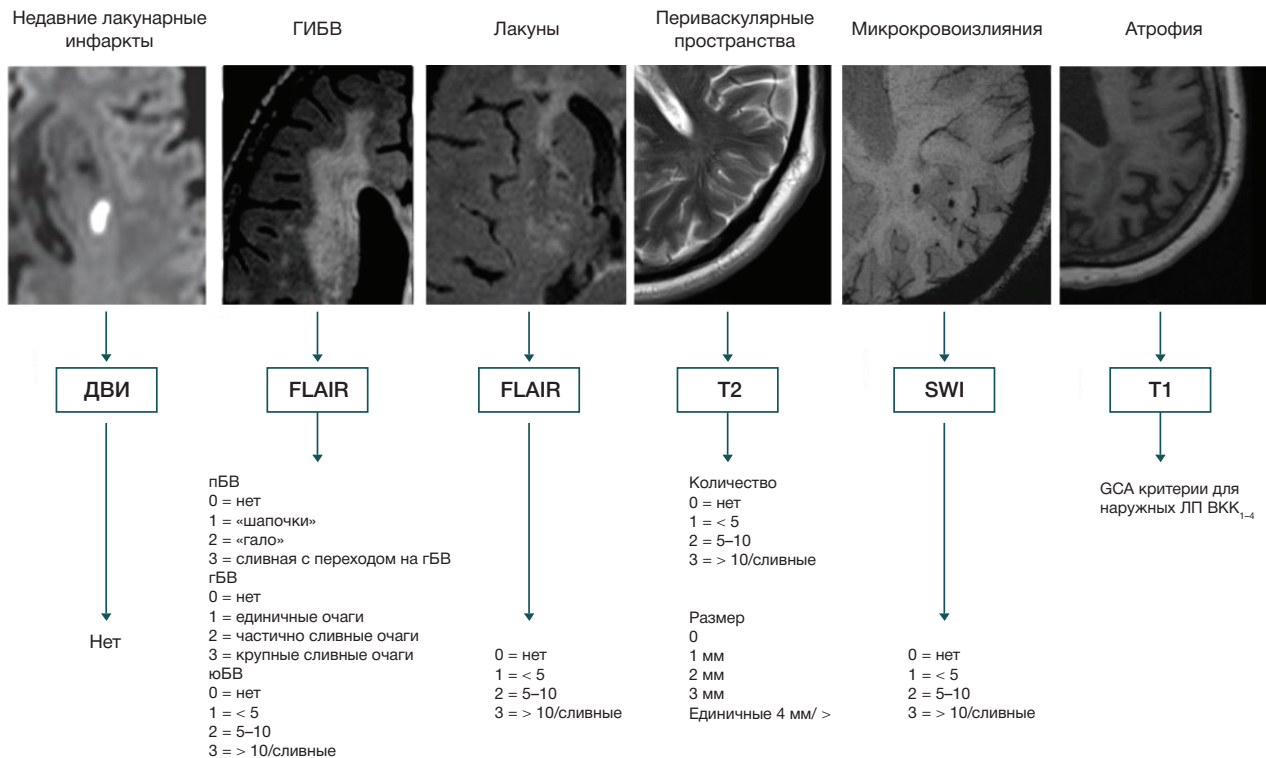
## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В основную группу было включено 96 пациентов с ЦМА (31 мужчина и 65 женщин, средний возраст —  $60,91 \pm 6,57$  лет), обратившихся в Научный центр неврологии. Критерии включения пациентов в исследование: наличие когнитивных жалоб; наличие изменений на МРТ, соответствующих признакам ЦМА по стандартам STRIVE (недавно случившиеся малые субкортикальные инфаркты, лакуны, гиперинтенсивность белого вещества (ГИБВ), расширенные периваскулярные пространства (ПВП), микрокровоизлияния (МКР), атрофия вещества головного мозга) [9]. Критерии исключения: наличие деменции, выраженность которой затрудняет проведение исследования; наличие иных причин инсульта и поражения мозга; наличие афазии; противопоказания для МРТ-исследования; наличие тяжелой соматической патологии; атеросклеротическое поражение магистральных артерий головы и шеи со стенозом более 50%. Контрольную группу составили 23 здоровых добровольца (8 мужчин и 15 женщин, средний возраст —  $59,13 \pm 6,56$  лет), без клинических и МРТ-данных наличия сосудистой и дегенеративной патологии головного мозга. Всем больным и лицам группы контроля проводили общее, неврологическое и нейропсихологическое обследование, оценку независимости поведения в повседневной жизни, МРТ головного мозга.

МРТ головного мозга проводили на магнитно-резонансном томографе Magnetom Verio (Siemens AG; Германия) с величиной магнитной индукции 3,0 Тесла и использованием 12-канальной головной катушки. План исследования включал проведение рутинной МРТ для оценки диагностических МРТ-признаков ЦМА, фазово-контрастной МРТ для определения показателей кровотока и ликворотока.

Рутинная клиническая МРТ включала режимы: T2-спин-эхо, 3D T1mp, FLAIR, ДВИ (диффузионно-взвешенные изображения), SWI (susceptibility weighted imaging — изображения, взвешенные по магнитной восприимчивости). Анализ изображений проводили в программе для работы с медицинскими изображениями RadiAnt DICOM Viewer, version 3.0.2 (Medixant; Польша) с оценкой МРТ-признаков ЦМА в соответствии со стандартами STRIVE. По данным ДВИ, у больных отсутствовали острые и подострые лакунарные инфаркты, в связи с чем далее этот признак не обсуждали. На рис. 1 представлена схема исследования МРТ-признаков ЦМА по соответствующим им основным МРТ-режимам, принципы оценки МРТ-признаков по локализации и выраженности. Пациенты были разделены на группы по степени общей выраженности изменений белого вещества полушарий большого мозга по шкале Fazekas: F1 — единичные очаги, F2 — единичные и частично сливные очаги, F3 — сливные очаги [12, 13].





**Рис. 1.** Алгоритм оценки признаков ЦМА. пБВ — перивентрикулярное белое вещество; гБВ — глубокое белое вещество; юБВ — юкстакортикальное белое вещество [10]; ЛП — ликворные пространства; ВКК — вентрикуло-краниальный коэффициент; GCA (global cortical atrophy scale) — шкала общей кортикальной атрофии [11]

Фазово-контрастную МРТ использовали для оценки интракраниального кровотока и ликворотока. Сбор данных проводили в условиях синхронизации по датчику периферического пульса. Сердечный цикл охватывали за 32 кадра. Параметры сканирования составили: TR = 28,7 мс, TE = 8 мс, толщина среза — 5,0 мм, поле обзора — 101 × 135 мм, матрица 256 × 192 пикселей, Venc (velocity encoding value, значение скорости кодирования) для ликворотока составило 5–20 см/с, для кровотока — 60–80 см/с. Плоскость среза была ориентирована строго перпендикулярно направлению кровотока во внутренних сонных артериях (BCA) и позвоночных артериях (ПА) на уровне С2–С3 позвонков, направлению ликворотока на уровне водопровода мозга, а также перпендикулярно кровотоку в прямом и верхнем сагиттальном синусах (рис. 2). Изображения обрабатывали в программе Bio Flow Image, Flow Analysis Software, Version 04.12.16 (Франция). Рассчитывали: объемный кровоток в BCA и ПА, и их сумму — общий церебральный артериальный кровоток (total arterial blood flow, tABF) (мл/мин.); венозный кровоток по верхнему сагиттальному синусу (superior sagittal sinus venous blood flow, sssVBF) (мл/мин.), прямому синусу (straight sinus venous blood flow, stVBF) (мл/мин.); ударный объем ликвора (aqueduct liquor flow, aqLF) (мм<sup>3</sup>/с) и площадь водопровода мозга (Saq) (мм<sup>2</sup>).

Для оценки упруго-эластических свойств (жесткости) артериальной сосудистой стенки рассчитывали индекс артериальной пульсации (pulsatility index, Pi) по формуле:  $Pi = (V_{max} - V_{min}) / V_{mean}$ , где  $V_{mean}$  — среднее значение кровотока в течение сердечного цикла,  $V_{max}$  и  $V_{min}$  — максимальные и минимальные значения кровотока соответственно; индекс интракраниального комплаенса (index of intracranial compliance, ICC) = ударный объем ликвора (мм<sup>3</sup>/с) на уровне водопровода мозга, деленный на артериальный пульсовой объем (мм<sup>3</sup>/с), равный площади под кривой артериального

кровотока выше среднего значения кровотока в течение сердечного цикла. Повышение данного индекса отражает снижение интракраниального комплаенса. В свою очередь, интракраниальный комплаенс отображает способность интракраниального компартмента (включающего головной мозг, ликвор, кровь в сосудах) приспосабливаться к изменению объема одного из его составляющих или появлению чужеродного образования (например, гематомы или опухоли) без выраженного изменения внутричерепного давления.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного пакета IBM SPSS Statistics 23.0 (IBM Company; США). В случае зависимой переменной количественного типа для оценки влияния независимой качественной переменной использовали одномерный дисперсионный анализ ANOVA с последующим попарным сравнением (между уровнями группирующей переменной) и поправкой по методу наименьшей значимой разности (НЗР).

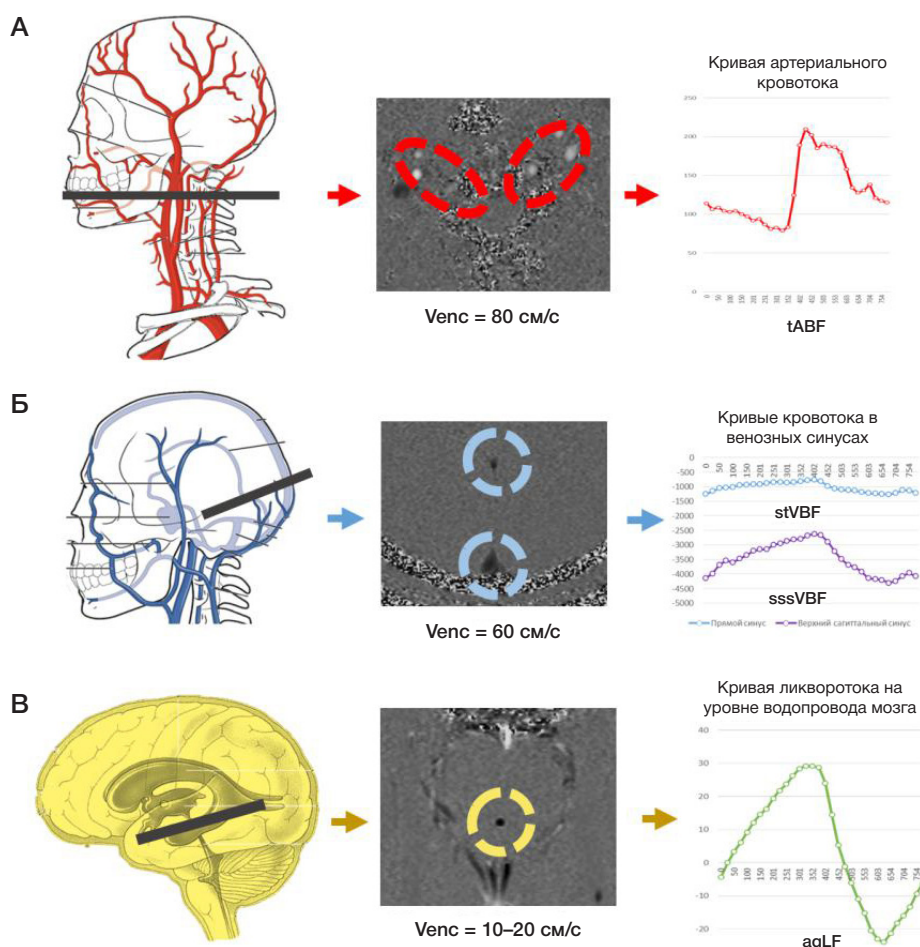
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая характеристика МРТ-признаков у больных с ЦМА представлена в таблице. У 94 (97,9%) пациентов в семиовальных центрах и у всех пациентов в подкорковых структурах были выявлены ПВП >10, поэтому в анализ брали только данные по степени расширения ПВП.

### Связь церебрального артериального кровотока с МРТ-признаками ЦМА

Статистически значимые ( $p < 0,05$ ) различия получены для показателей артериального кровотока при разной выраженности ГИБВ, лакун, расширенных ПВП и атрофии в теменной, височной и затылочной коре. Связи tABF, Pi с





**Рис. 2.** Общая схема проведения ФК-МРТ. **А.** Исследование кровотока по внутренним сонным и позвоночным артериям. **Б.** Исследование кровотока по прямому и верхнему сагиттальному синусам. **В.** Исследование ликворотока на уровне сильвиева водопровода

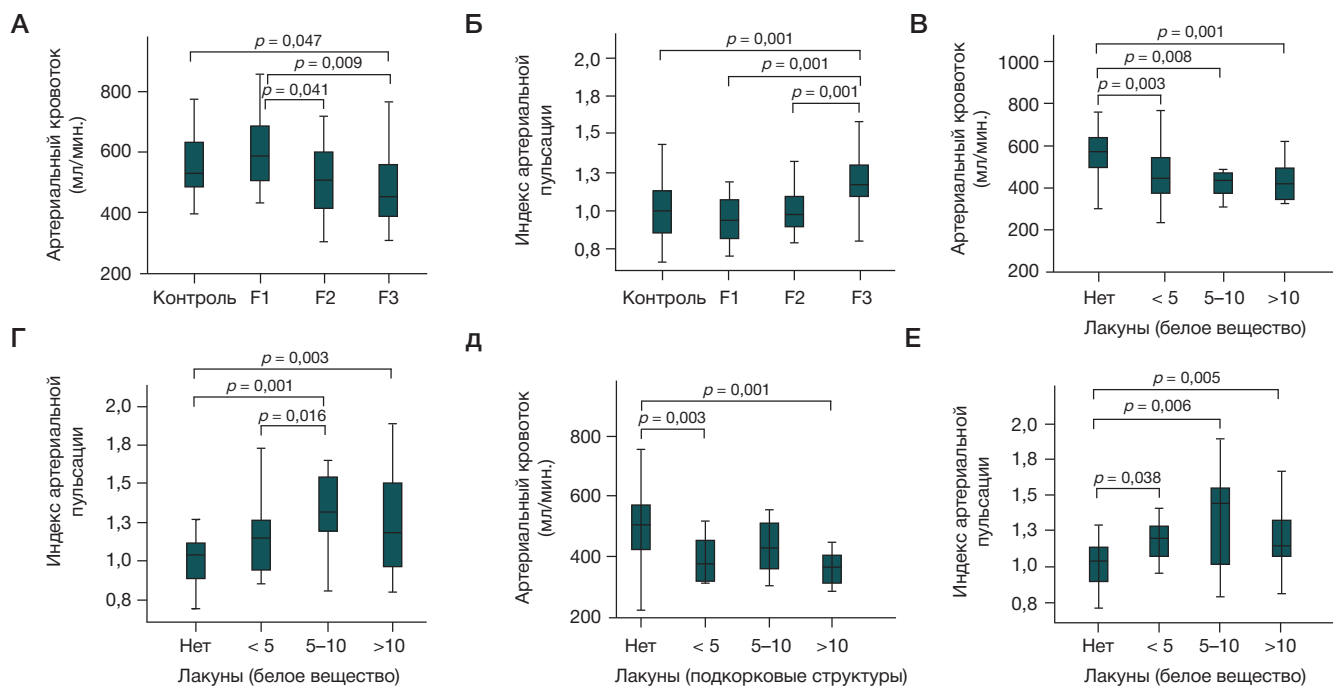
выраженностью МКР и атрофией в других отделах коры не обнаружено. Сопоставление средних (метод НЗР) показало статистически значимое снижение tABF и повышение Pi при ГИБВ стадии Fazekas 3 по сравнению с контролем и другими стадиями Fazekas, постепенное снижение tABF и повышение Pi практически для всех групп выраженности лакун по сравнению с группой, в которой они отсутствуют (рис. 3).

#### Связь церебрального венозного кровотока с МРТ-признаками ЦМА

Проведенный анализ ANOVA показал статистически значимые различия показателей венозного кровотока по верхнему сагиттальному и прямому синусам (stVBF, sssVBF) между контролем и группами с разной выраженностью ГИБВ. Дальнейшее апостериорное сравнение средних

**Таблица.** Распределение МРТ-признаков ЦМА в группе пациентов. ГИБВ — гиперинтенсивность белого вещества; МКР — микрокровоизлияния; ПВП — периваскулярные пространства; БВ — белое вещество

Показатель	n (%)
Выраженность ГИБВ: Fazekas 1 / Fazekas 2 / Fazekas 3	26 (27,1%) / 31 (32,3%) / 39 (40,6%)
Лакуны (количество) в БВ полушарий мозга: нет / < 5 / 5–10 / > 10 в подкорковых структурах: нет / < 5 / 5–10 / > 10	42 (43,8%) / 16 (16,7%) / 9 (9,4%) / 17 (17,7%) 32 (33,3%) / 11 (11,5%) / 9 (9,4%) / 12 (12,5%)
МКР (количество) в БВ полушарий мозга: нет / < 5 / 5–10 / > 10 в подкорковых структурах: нет / < 5 / 5–10 / > 10	28 (29,2%) / 12 (12,5%) / 5 (5,2%) / 11 (11,5%) 28 (29,2%) / 13 (13,5%) / 4 (4,2%) / 11 (11,5%)
Атрофия: нет / слабая / умеренная / выраженная	57 (59,4%) / 51 (53,1%) / 6 (6,3%) / 0 (0%)
ПВП в семиовальных центрах: 1–2 мм / 3 мм / 4 мм в подкорковых структурах: 1–2 мм / 3 мм / 4 мм	90 (93,8%) / 4 (4,2%) / 2 (2%) 68 (70,8%) / 21 (21,9%) / 7 (7,3%)



**Рис. 3.** Сравнительный анализ tABF и Pi между больными с ГИБВ по стадиям Fazekas и контролем (А и Б соответственно), между группами больных с разной выраженностью лакун и без лакун в белом веществе (В, Г) и подкорковых структурах (Д, Е)

данных показателей методом НЗР выявило статистически значимое снижение stVBF, sssVBF при ГИБВ стадии Fazekas 3 по сравнению с контролем, а stVBF — и по сравнению со стадией Fazekas 2 (рис. 4).

Аналогично были получены достоверные различия между показателями венозного кровотока для группы контроля и пациентов с ЦМА с разной выраженностью лакун в белом веществе и подкорковых структурах; при этом выявлено статистически значимое снижение stVBF, sssVBF в группе больных с числом лакун 5–10 и > 10 в белом веществе по сравнению с группой без лакун; снижение stVBF в группе больных с числом лакун 5–10 и > 10 и снижение sssVBF в группе больных с числом лакун > 10 и < 5 в подкорковых ганглиях по сравнению с группой без лакун (рис. 4).

Для МКР были показаны статистически значимые различия по венозному кровотоку между группой контроля и пациентами с юстакортикальной локализацией МКР в разных отделах мозга. Проведенное апостериорное сравнение средних методом НЗР показало статистически значимую связь снижения в sssVBF и stVBF в группе ранних (< 5) МКР в юстакортикальном БВ теменных долей по сравнению с больными без МКР, снижения в sssVBF группе ранних (< 5) МКР в глубоком БВ задних отделов лобных долей по сравнению с больными без МКР.

Анализ ANOVA показал статистически значимые различия показателя sssVBF между контролем и группами больных с расширенными ПВП, а stVBF, sssVBF — с наружной атрофией в височной и теменных долях.

#### Связь ликворотока и интракраниального комплаенса с МРТ-признаками ЦМА

Для показателей ударного объема ликвора (aqlF), площади водопровода (Saq) и коэффициента интракраниального комплаенса (ICC) были получены достоверные различия между группой контроля и группами пациентов с разной выраженностью ГИБВ (статистически значимое снижение aqlF, Saq, ICC при ГИБВ стадии Fazekas 3 по сравнению

с контролем и всеми другими стадиями Fazekas); Saq, ICC между контролем и группами с разной выраженностью лакун в БВ (увеличение Saq и ICC в группе больных с числом лакун > 10 по сравнению с группой без лакун) (рис. 5); aqlF, Saq, ICC между контролем и группами больных с юстакортикальными МКР в разных отделах мозга (увеличение aqlF, Saq, ICC в группе больных с 5–10 МКР в юстакортикальном БВ височных и теменных долей по сравнению с больными без МКР и ранними (< 5) МКР).

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведено исследование, направленное на изучение роли изменений артериального, венозного кровотока и ликворотока, измеренных методом ФК-MPT, в формировании МРТ-признаков ЦМА, согласно международным стандартам STRIVE [9]. В ранее проводимых работах значимость изменений определяли лишь по сопоставлению с лейкоареозом (ГИБВ) и лакунами [14]. Многообразие сочетаний признаков ЦМА, определяющих гетерогенность МРТ-форм возраст-зависимой ЦМА, отсутствие однозначного влияния выраженности ГИБВ и других МРТ-признаков на тяжесть клинических проявлений ЦМА позволили предположить, что особенности формирования нейровизуализационных проявлений также обусловлены сочетанием нарушений в компонентах интракраниального гомеостаза, определяемых доктриной Монро-Келли, при преобладании какого-либо из них.

В настоящем исследовании выявлено постепенное изменение показателей кровотока и ликворотока с нарастанием выраженности ГИБВ по стадиям Fazekas. Однако статистически значимая связь снижения tABF, повышения Pi, снижения stVBF, sssVBF и повышения aqlF, Saq, ICC выявлена только при ГИБВ стадии Fazekas 3 по сравнению с контролем. Одновременность нарушений кровотока и ликворотока при выраженной ГИБВ — главного МРТ-признака ЦМА — свидетельствует о сложности и многокомпонентности определяющих ее механизмов, приводящих к нарушению интракраниального

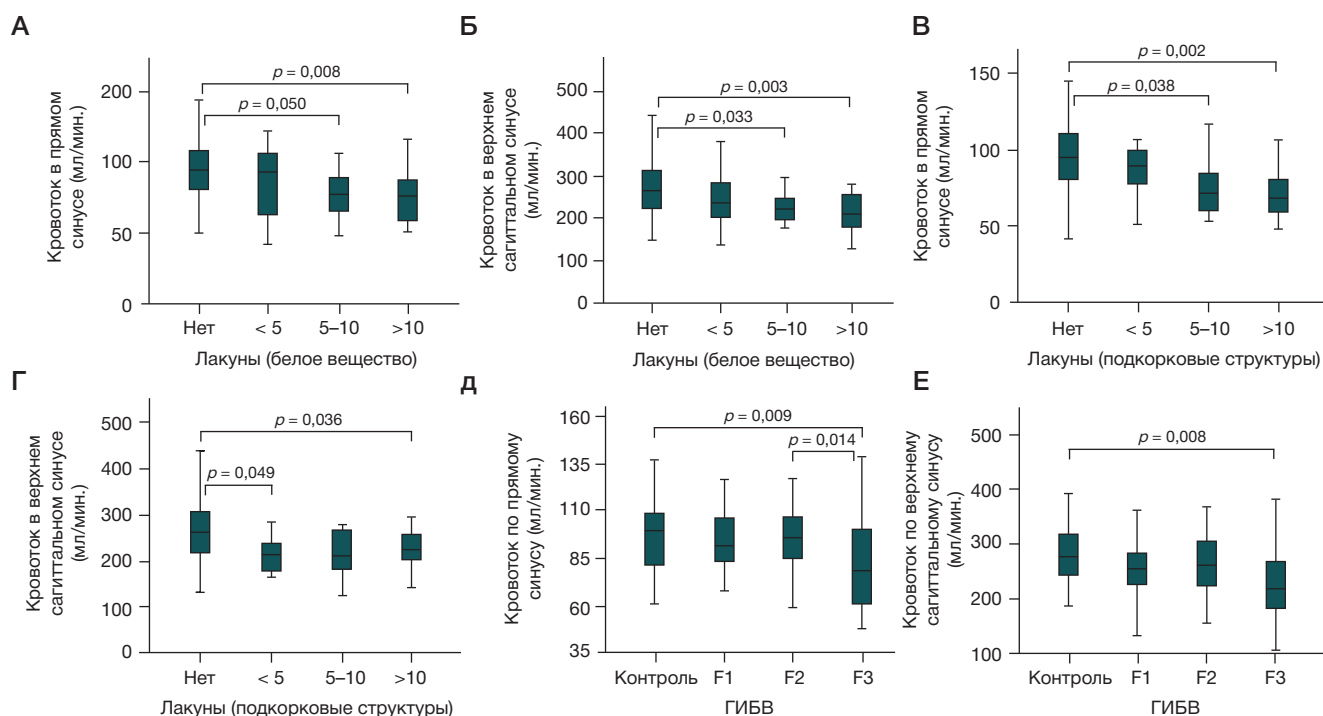


Рис. 4. Сравнительный анализ показателей венозного кровотока между группами контроля и больных с разной выраженностью лакун (А-Г) и ГИБВ по стадиям Fazekas (Д-Е)

гомеостаза. Полученные данные согласуются с результатами морфологических исследований ЦМА с артериальной гипертензией (АГ), указывающими на наличие в развернутой стадии не только изменений, связанных с ишемией вследствие артериолосклероза, но и венозного коллагеноза с застоем и отеком головного мозга [15].

Нужно отметить, что данные о характере изменений артериального кровотока у больных с ЦМА по мере прогрессирования ГИБВ также неоднозначны: в литературе описано как его снижение [16], так и отсутствие связи между развитием лейкоареоза и снижением церебрального кровотока [14]. В дальнейшем исследовании связи ГИБВ и церебрального кровотока [17] показано, что исходное более тяжелое поражение ГИБВ развивалось до снижения церебрального кровотока, а не снижение церебрального кровотока предшествовало прогрессированию поражения ГИБВ. Это позволило исследователям сделать вывод о том, что уменьшение объема мозговой ткани приводит к редукции церебрального кровотока. Полученные нами данные о повышении артериального кровотока при ГИБВ стадии Fazekas 1 и отсутствие достоверного снижения кровотока на стадии Fazekas 2 по сравнению с контролем подтверждают значение неишемических механизмов в развитии ранней ГИБВ и возможную редукцию кровотока в ответ на повреждение вещества головного мозга при выраженной ГИБВ [3].

В нашем исследовании установлено влияние постепенного снижения кровотока на увеличение числа лакун, что совпадает с данными других исследований [18] и свидетельствует об однозначной роли ишемии в их формировании. В исследовании также выявлена связь снижения кровотока в верхнем сагиттальном и прямом синусах, а также повышения ликворотока и индекса интракраниального комплаенса с формированием множественных лакун, что, по всей вероятности, отражает тяжесть поражения головного мозга больных на стадии множественных лакун [19].

Обращает на себя внимание тот факт, что повышение артериальной пульсации в проведенном исследовании

было универсально связано с нарастанием количества лакун и выраженности ГИБВ, что согласуется с данными других исследований [18], а также с расширением ПВП (ранее в литературе не обсуждалось). Повышение индекса артериальной пульсации служит признаком снижения упругости стенок артерий, что обусловлено изменением их свойств вследствие высокой проницаемости и пропитывания стенки и последующим артериолосклерозом у больных ЦМА с АГ и без АГ [20]. Увеличение артериального пульсового давления не способно демпфироваться за счет виндкессел-эффекта, и гораздо большая пульсация может переходить к венозным сосудам [21]. Это затрудняет дренирование интерстициальной жидкости в ПВП с накоплением токсичных продуктов метаболизма и их блоком, что проявляется расширением ПВП и признаками повреждения вещества головного мозга — ГИБВ [22]. Последнее активно обсуждают в литературе в свете недавно описанной системы дренирования мозга — лимфатической системы [23], может служить объяснением полученных в исследовании ассоциаций артериальной пульсации с величиной ПВП и стать дополнительным обсуждаемым механизмом развития ГИБВ. Кроме того, в литературе обсуждают связь церебрального венозного коллагеноза с венозной ишемией, увеличением сосудистого сопротивления, нарушением циркуляции интерстициальной жидкости и повреждением ГЭБ с развитием вазогенного отека, что в свою очередь является одним из объяснений формирования ГИБВ наряду с ишемическими механизмами [22]. Окончательно не установлено, вызвано повреждение венул гидравлическим ударом или является самостоятельным патологическим процессом. В этом свете интересен тот факт, что традиционное распространение ГИБВ (лейкоареоза) соответствует зоне глубокого венозного оттока, тогда как в поверхностной зоне венозного оттока изменения значительно менее выражены. Но в то же время нами были получены статистически значимые связи снижения венозного кровотока в прямом и верхнем

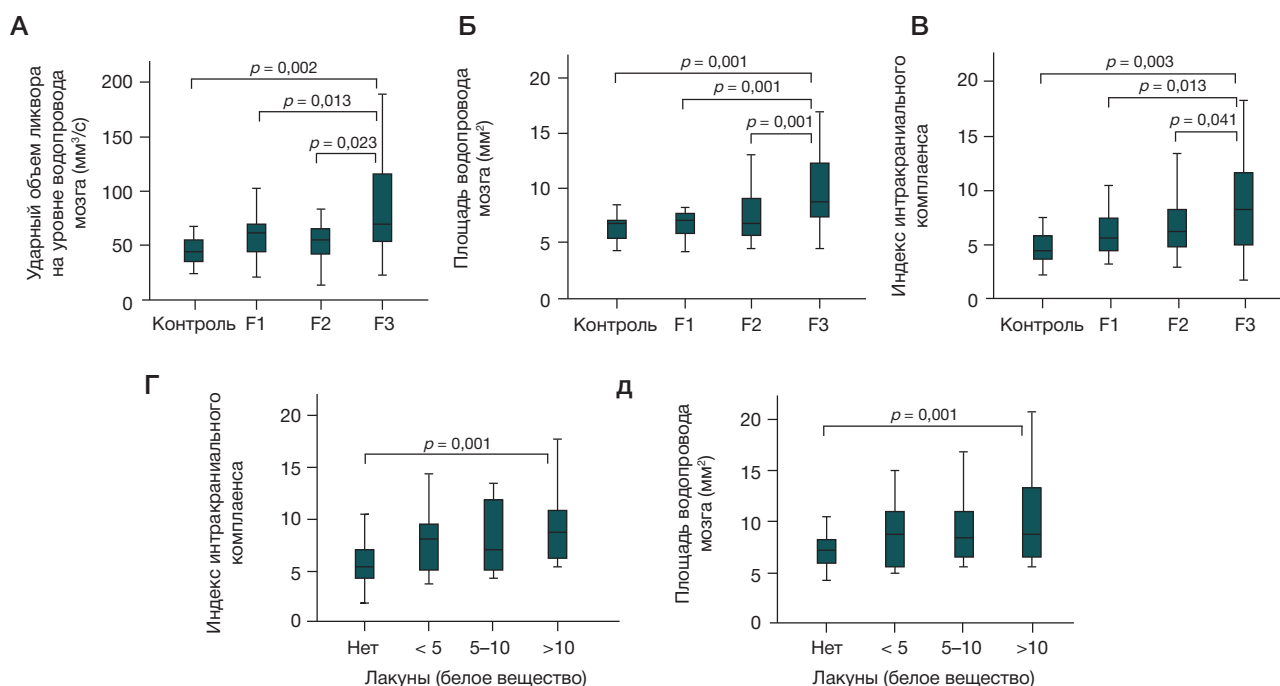


Рис. 5. Сравнительный анализ показателей ликворотока и индекса интракраниального комплаенса между группами контроля и больных с разной выраженностью ГИБВ по стадиям Fazekas (А–В) и лакун (Г–Д)

сагиттальном синусах с формированием ранних (< 5) микрокровоизлияний, подтверждающие важную роль кортикальных вен в поддержании интракраниального комплаенса (податливости) мозга [24] и их повреждении и разрывах при срыве механизмов ауторегуляции.

Особенности формирования микрокровоизлияний и их связь с изменениями кровотока и ликворотока заслуживают отдельного обсуждения. Единичные и множественные МКР выявляли более чем у трети больных. Проведенный анализ показал, что большинство из них располагалось в равной степени в подкорковых структурах или юстакортикально, а у 56,8% больных — одновременно в подкорковых структурах и субкортикально [25]. Последнее представляет значительный интерес, так как существуют заключения о связи локализации МКР с характером патологического процесса: в подкорковых ганглиях — с АГ, юстакортикальных и корковых — с церебральной амилоидной ангиопатией [26]. Поскольку у данной выборки больных отсутствовали лобарные и поверхностные кровоизлияния, наличие которых является опорным признаком при диагностировании церебральной амилоидной ангиопатии (ЦАА) *in vivo*, нельзя исключить для части случаев раннюю ЦАА, учитывая верхнее возрастное ограничение пациентов в нашем исследовании. В то же время МКР были наиболее выражены в группе Fazekas 3, которая в том числе характеризовалась множественными лакунами, наличие которых нетипично для ЦАА [27]. Недавно проведенное сопоставление данных МРТ и ПЭТ с Питсбургским контрастом показало, что одновременное расположение МКР в подкорковых структурах и субкортикально более характерно для гипертензивной ЦАА, а не ЦАА [28]. Полученные ранее на нашей выборке пациентов корреляции МКР юстакортикального и глубокого расположения с объемом поверхностных вен, а МКР

глубокого и перивентрикулярного расположения — с объемом глубоких вен [29], позволили предположить вероятную роль венозного застоя в соответствующих зонах в развитии МКР определенной локализации, подобно тому как это происходит при церебральных тромбозах вен и венозных синусов. Такой предполагаемый механизм может объяснить одновременность их локализации в подкорковых структурах и в субкортикальном белом веществе. Последующее проспективное наблюдение за этими больными позволит уточнить прогностическую ценность локализации МКР и сочетания с другими МРТ-признаками для уточнения ранних маркеров ЦАА. Последнее крайне актуально, поскольку бесконтрольный прием антиагрегантов пожилыми больными, является одним из ведущих факторов риска развития у них лобарных кровоизлияний.

## ВЫВОДЫ

Установленные взаимосвязи изменений в артериальном и венозном кровотоках и ликворотоке у больных ЦАА с МРТ-проявлениями позволяют предполагать патогенетическую значимость в развитии ЦАА механизмов, связанных с нарушением гомеостаза Монро–Келли. Наиболее вероятно, что иницирующей стадией дисбаланса гомеостаза Монро–Келли является повышение пульсации артерий, о чем свидетельствует универсальная связь данного показателя с основными клиническими проявлениями (когнитивными расстройствами и нарушениями ходьбы) и всеми диагностическими МРТ-признаками ЦАА. Это обуславливает клиническую значимость применения анализа МР-признаков STRIVE и показателей кровотока и ликворотока по данным ФК-МРТ при индивидуальном наблюдении больных с ЦАА для оценки эффективности проводимого лечения и профилактики.



## Литература

1. Dumoulin CL, Yucel EK, Vock P, et al. Two- and three-dimensional phase contrast MR angiography of the abdomen. *J Comput Assist Tomogr.* 1990; (14): 779–84.
2. Halperin JJ, Kurlan R, Schwab JM, Cusimano MD, Gronseth G, Gloss D. Practice guideline. Idiopathic normal pressure hydrocephalus: Response to shunting and predictors of response. Report of the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology.* 2015; (85): 2063–71.
3. Ахметзянов Б. М., Кремнева Е. И., Морозова С. Н., Добрынина Л. А., Кротенкова М. В. Возможности магнитно-резонансной томографии в оценке ликворной системы в норме и при различных заболеваниях нервной системы. *Russian electronic journal of radiology.* 2018; 8 (1): 145–66.
4. Pantoni L. Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges. *Lancet Neurol.* 2010; (9): 689–701.
5. Шахпаронова Н. В., Кадыков А. С. Хронические сосудистые заболевания головного мозга: алгоритм диагностики и лечения. *Consilium Medicum.* 2017; 19 (2): 104–9.
6. Wardlaw JM, Smith C, Dichgans M. Mechanisms of sporadic cerebral small vessel disease: insights from neuroimaging. *Lancet Neurol.* 2013; (12): 483–97.
7. Rost NS, Rahman RM, Biffi A, et al. White matter hyperintensity volume is increased in small vessel stroke subtypes. *Neurology.* 2010; (75): 1670–7.
8. Гулевская Т. С. Патология белого вещества полушарий головного мозга при артериальной гипертензии с нарушениями мозгового кровообращения [диссертация]. М., 1994.
9. Wardlaw JM, Smith EE, Biessels GJ, et al. Neuroimaging standards for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration. *Lancet Neurol.* 2013; (12): 822–38.
10. Kim KW, MacFall JR, Payne ME. Classification of white matter lesions on magnetic resonance imaging in elderly persons. *Biol Psychiatry.* 2008; (64): 273–80.
11. Harper L, Barkhof F, Fox NC, Schott JM. Using visual rating to diagnose dementia: a critical evaluation of MRI atrophy scales. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015; 86 (11): 1225–33. DOI: 10.1136/jnnp-2014-310090.
12. Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, et al. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *AJR Am J Roentgenol.* 1987; 149 (2): 351–6.
13. Pantoni L, Basile AM, Pracucci G, Asplund K, Bogousslavsky J, Chabriet H. et al. Impact of age-related cerebral white matter changes on the transition to disability: the LADIS study: rationale, design and methodology. *Neuroepidemiology.* 2005; 24: 51–62.
14. Henry-Feugeas MC, Roy C, Baron G, Schouman-Claeys E. Leukoaraiosis and pulse-wave encephalopathy: observations with phase contrast MRI in mild cognitive impairment. *J Neuroradiol.* 2009; (36): 212–8.
15. Schmidt R, Schmidt H, Haybaeck J, et al. Heterogeneity in age-related white matter changes. *Acta Neuropathol.* 2011; (122): 171–85.
16. Shi Y, Wardlaw J. Update on cerebral small vessel disease: a dynamic whole-brain disease. *Stroke and Vascular Neurology.* 2016; (2): 83–92.
17. Van der Veen PH, Muller M, Vincken KL, et al. Longitudinal relationship between cerebral small-vessel disease and cerebral blood flow: the second manifestations of arterial disease-magnetic resonance study. *Stroke.* 2015; (46): 1233–8.
18. Poels MM, Zaccai K, Verwoert GC, et al. Arterial stiffness and cerebral small vessel disease: the Rotterdam Scan Study. *Stroke.* 2012; (43): 2637–42.
19. Kremneva EI, Akhmetzyanov BM, Gadzhieva ZSh, Sergeeva AN, Zabitova MR, Morozova SN, et al. Assessment of different pathogenetic mechanisms and disease progression in sporadic cerebral small vessel disease patients based on MRI STRIVE criteria. *Neuroradiology.* 2018; 60 (suppl 2): S430–S430.
20. Shi Y, Thrippleton MJ, Marshall I, Wardlaw JM. Intracranial pulsatility in patients with cerebral small vessel disease: a systematic review. *Clinical Science (London).* 2018; 32 (1): 157–71.
21. Bateman GA, Levi CR, Schofield P, et al. The venous manifestations of pulse wave encephalopathy: windkessel dysfunction in normal aging and senile dementia. *Neuroradiology.* 2008; (50): 491–7.
22. Potter GM, Doubal N, Jackson CA, et al. Enlarged perivascular spaces and cerebral small vessel disease. *Int J Stroke.* 2015; (10): 376–81.
23. Mestre H, Kostikov S, Mehta RI, Nedergaard M. Perivascular spaces, glymphatic dysfunction, and small vessel disease. *Clinical science.* 2017; (131): 2257–74.
24. Vignes JR, Dagain A, Guerin J, Liguoro D. A hypothesis of cerebral venous system regulation based on a study of the junction between the cortical bridging veins and the superior sagittal sinus. Laboratory investigation. *J Neurosurg.* 2007; (107): 1205–10.
25. Забитова М. Р., Шабалина А. А., Добрынина Л. А., Костырева М. В., Ахметзянов Б. М., Гаджиева З. Ш. и др. Тканевой активатор плазминогена и МРТ-признаки церебральной микроангиопатии. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2018; 12 (4): 30–6.
26. Charidimou A, Pantoni L, Love S. The concept of sporadic cerebral small vessel disease: A road map on key definitions and current concepts. *Int J Stroke.* 2016; 11 (1): 6–18.
27. Greenberg SM, Vernooij MW, Cordonnier C. Cerebral microbleeds: a guide to detection and interpretation. *Lancet Neurol.* 2009; (8): 165–74.
28. Tsai HH, Pasi M, Tsai LK, et al. Microangiopathy underlying mixed-location intracerebral hemorrhages / microbleeds: A PiB-PET study. *Neurology.* 2019; 92 (8): e774–e781. DOI: 10.1212/WNL.0000000000006953.
29. Ахметзянов Б. М. Роль нарушений кровотока и ликворотока в поражении головного мозга при церебральной микроангиопатии [диссертация]. М., 2019.

## References

1. Dumoulin CL, Yucel EK, Vock P, et al. Two- and three-dimensional phase contrast MR angiography of the abdomen. *J Comput Assist Tomogr.* 1990; (14): 779–84.
2. Halperin JJ, Kurlan R, Schwab JM, Cusimano MD, Gronseth G, Gloss D. Practice guideline. Idiopathic normal pressure hydrocephalus: Response to shunting and predictors of response. Report of the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology.* 2015; (85): 2063–71.
3. Akhmetzyanov BM, Kremneva EI, Morozova SN, Dobrynina LA, Krotchenkova MV. Vozmozhnosti magnitno-rezonansnoy tomografii v ocenke likvornoj sistemy v norme i pri razlichnyh zabolevaniyah nervnoj sistemy. *Russian electronic journal of radiology.* 2018; 8 (1): 145–66. Russian.
4. Pantoni L. Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges. *Lancet Neurol.* 2010; (9): 689–701.
5. Shahparonova NV, Kadykov AS. Hronicheskie sosudistye zabolevaniya golovnog mozga: algoritm diagnostiki i lecheniya. *Consilium Medicum.* 2017; 19 (2): 104–9.
6. Wardlaw JM, Smith C, Dichgans M. Mechanisms of sporadic cerebral small vessel disease: insights from neuroimaging. *Lancet Neurol.* 2013; (12): 483–97.
7. Rost NS, Rahman RM, Biffi A, et al. White matter hyperintensity volume is increased in small vessel stroke subtypes. *Neurology.* 2010; (75): 1670–7.
8. Gulevskaya TS. Patologiya belogo veshhestva polushariy golovnog mozga pri arterial'noj gipertonii s narusheniyami mozgovogo krovoobrashheniya [dissertatsiya]. М., 1994.
9. Wardlaw JM, Smith EE, Biessels GJ, et al. Neuroimaging standards



- for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration. *Lancet Neurol.* 2013; (12): 822–38.
10. Kim KW, MacFall JR, Payne ME. Classification of white matter lesions on magnetic resonance imaging in elderly persons. *Biol Psychiatry.* 2008; (64): 273–80.
  11. Harper L, Barkhof F, Fox NC, Schott JM. Using visual rating to diagnose dementia: a critical evaluation of MRI atrophy scales. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015; 86 (11): 1225–33. DOI: 10.1136/jnnp-2014-310090.
  12. Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, et al. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *AJR Am J Roentgenol.* 1987; 149 (2): 351–6.
  13. Pantoni L, Basile AM, Pracucci G, Asplund K, Bogousslavsky J, Chabriet H. et al. Impact of age-related cerebral white matter changes on the transition to disability: the LADIS study: rationale, design and methodology. *Neuroepidemiology.* 2005; 24: 51–62.
  14. Henry-Feugeas MC, Roy C, Baron G, Schouman-Claeys E. Leukoaraiosis and pulse-wave encephalopathy: observations with phase contrast MRI in mild cognitive impairment. *J Neuroradiol.* 2009; (36): 212–8.
  15. Schmidt R, Schmidt H, Haybaeck J, et al. Heterogeneity in age-related white matter changes. *Acta Neuropathol.* 2011; (122): 171–85.
  16. Shi Y, Wardlaw J. Update on cerebral small vessel disease: a dynamic whole-brain disease. *Stroke and Vascular Neurology.* 2016; (2): 83–92.
  17. Van der Veen PH, Muller M, Vincken KL, et al. Longitudinal relationship between cerebral small-vessel disease and cerebral blood flow: the second manifestations of arterial disease-magnetic resonance study. *Stroke.* 2015; (46): 1233–8.
  18. Poels MM, Zaccal K, Verwoert GC, et al. Arterial stiffness and cerebral small vessel disease: the Rotterdam Scan Study. *Stroke.* 2012; (43): 2637–42.
  19. Kremneva EI, Akhmetzyanov BM, Gadzhieva ZSh, Sergeeva AN, Zabitova MR, Morozova SN, et al. Assessment of different pathogenetic mechanisms and disease progression in sporadic cerebral small vessel disease patients based on MRI STRIVE criteria. *Neuroradiology.* 2018; 60 (suppl 2): S430–S430.
  20. Shi Y, Thrippleton MJ, Marshall I, Wardlaw JM. Intracranial pulsatility in patients with cerebral small vessel disease: a systematic review. *Clinical Science (London).* 2018; 32 (1): 157–71.
  21. Bateman GA, Levi CR, Schofield P, et al. The venous manifestations of pulse wave encephalopathy: windkessel dysfunction in normal aging and senile dementia. *Neuroradiology.* 2008; (50): 491–7.
  22. Potter GM, Doubal N, Jackson CA, et al. Enlarged perivascular spaces and cerebral small vessel disease. *Int J Stroke.* 2015; (10): 376–81.
  23. Mestre H, Kostikov S, Mehta RI, Nedergaard M. Perivascular spaces, glymphatic dysfunction, and small vessel disease. *Clinical science.* 2017; (131): 2257–74.
  24. Vignes JR, Dagain A, Guerin J, Liguoro D. A hypothesis of cerebral venous system regulation based on a study of the junction between the cortical bridging veins and the superior sagittal sinus. Laboratory investigation. *J Neurosurg.* 2007; (107): 1205–10.
  25. Zabitova MR, Shabalina AA, Dobrynina LA, Kostyreva MV, Ahmetzyanov BM, Gadzhieva ZSh, i dr. Tkanevoj aktivator plazminogena i MRT-priznaki cerebral'noj mikroangiopatii. *Annaly klinicheskoy i jeksperimental'noj nevrologii.* 2018; 12 (4): 30–6.
  26. Charidimou A, Pantoni L, Love S. The concept of sporadic cerebral small vessel disease: A road map on key definitions and current concepts. *Int J Stroke.* 2016; 11 (1): 6–18.
  27. Greenberg SM, Vernooij MW, Cordonnier C. Cerebral microbleeds: a guide to detection and interpretation. *Lancet Neurol.* 2009; (8): 165–74.
  28. Tsai HH, Pasi M, Tsai LK, et al. Microangiopathy underlying mixed-location intracerebral hemorrhages / microbleeds: A PiB-PET study. *Neurology.* 2019; 92 (8): e774–e781. DOI: 10.1212/WNL.0000000000006953.
  29. Ahmetzyanov BM. Rol' narushenij krovotoka i likvorotoka v porazhenii golovnog mozga pri cerebral'noj mikroangiopatii [dissertacija]. M., 2019.

## ОЦЕНКА НЕОВАСКУЛЯРИЗАЦИИ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКИ КАРОТИДНОГО СИНУСА С ПОМОЩЬЮ КОНТРАСТ-УСИЛЕННОГО УЗИ

А. Н. Евдокименко ✉, А. О. Четчин, Л. Д. Друина, М. М. Танашян

Научный центр неврологии, Москва, Россия

Степень неоваскуляризации атеросклеротической бляшки (АСБ) каротидного синуса связывают с повышенным риском развития инсульта. Для выявления новообразованных сосудов в структуре бляшки *in vivo* широко применяют контраст-усиленное ультразвуковое исследование (КУУЗИ), однако до настоящего времени отсутствует единый подход к интерпретации результатов. Целью работы было установить наиболее надежный метод оценки неоваскуляризации АСБ каротидного синуса по данным КУУЗИ. У 73 пациентов удалено при каротидной эндартерэктомии, проанализировано, и морфологически исследовано 78 АСБ. Всем пациентам проводили стандартное дуплексное сканирование сонных артерий и КУУЗИ с введением эхоконтрастного препарата «Соноvue». Неоваскуляризацию АСБ оценивали с использованием 4-балльной визуальной шкалы и трех методов количественной оценки в программе QLAB. По данным визуальной шкалы (метод 1), преобладали слабо и умеренно васкуляризованные бляшки (37% и 51% соответственно). Результаты количественной оценки (Me (Q1; Q3)): количество сосудов на 1 см<sup>2</sup> бляшки (метод 2) составило 16 (10; 26); соотношение площадей сосудов и бляшки (метод 3) — 6% (3; 9); значение ROI АСБ (метод 4) — 2,6 дБ (1,8; 4,1). Значимая корреляция отмечена: между результатами оценки по методам 2 и 3 ( $p < 0,0001$ ); по методам 3 и 1 ( $p = 0,0006$ ); морфологическими данными и результатами оценки по методам 1–3, особенно по методу 2 ( $p < 0,004$ ). Значение ROI АСБ с данными других методов не коррелировало. Продemonстрировано резкое снижение надежности УЗ-оценки неоваскуляризации с увеличением объема гиперэхогенного компонента (кальцификатов) в АСБ. Наиболее точным способом количественной оценки неоваскуляризации АСБ при КУУЗИ является подсчет количества сосудов на 1 см<sup>2</sup> бляшки.

**Ключевые слова:** атеросклероз, сонная артерия, неоваскуляризация атеросклеротической бляшки, контраст-усиленное ультразвуковое исследование, препарат «Соноvue», визуальная шкала, количественный анализ, морфологическое исследование

**Финансирование:** работа выполнена в рамках государственного задания ФГБНУ НЦН.

**Благодарности:** сотрудникам группы сосудистой и эндоваскулярной хирургии Научного центра неврологии С. И. Скрылеву, В. Л. Щипакину и А. Ю. Кощееву за предоставленный биопсийный материал.

**Информация о вкладе авторов:** А. Н. Евдокименко — анализ литературы, разработка дизайна исследования, сбор, анализ и интерпретация данных, написание рукописи; А. О. Четчин — анализ литературы, разработка дизайна исследования, сбор и интерпретация данных, редактирование рукописи; Л. Д. Друина — сбор данных; М. М. Танашян — разработка дизайна исследования, редактирование рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом Научного центра неврологии (протокол № 4/15 от 22 апреля 2015 г.); все пациенты подписали добровольное информированное согласие на его проведение.

✉ **Для корреспонденции:** Анна Николаевна Евдокименко  
Волоколамское шоссе, д. 80, г. Москва, 125367; evdokimenko@neurology.ru

**Статья получена:** 15.08.2019 **Статья принята к печати:** 30.08.2019 **Опубликована онлайн:** 31.08.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.057

## CONTRAST-ENHANCED ULTRASONOGRAPHY FOR ASSESSING NEOVASCULARIZATION OF CAROTID ATHEROSCLEROTIC PLAQUE

Evdokimenko AN ✉, Chechetkin AO, Druina LD, Tanashyan MM

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Neovascularization of a carotid atherosclerotic plaque (AP) is associated with an increased risk of stroke. Contrast-enhanced ultrasonography (CEUS) is a widely used method for imaging intraplaque neovascularization *in vivo*. Unfortunately, there are no standardized guidelines for CEUS interpretation. The aim of this study was to identify the most reliable method for CEUS-based assessment of AP neovascularization. Seventy-eight AP were removed during carotid endarterectomy in 73 patients, of whom 5 had AP on both sides, and examined morphologically. All patients underwent preoperative duplex scanning and CEUS; Sonovue was used as a contrast agent. AP neovascularization was assessed on a 4-grade visual scale and with 3 different quantitative methods using QLAB software. On the visual scale (method 1), poorly (37%) and moderately (51%) vascularized plaques were the most common. Quantitative analysis (data were presented as Me (Q1; Q3)) revealed that the number of blood vessels per 1 cm<sup>2</sup> of the plaque (method 2) was 16 (10; 26), the ratio of the total vessel area to the plaque area (method 3) was 6% (3; 9), and AP ROI (method 4) was 2.6 dB (1.8; 4.1). Significant correlations were demonstrated between the results produced by method 2 and method 3 ( $p < 0.0001$ ), method 3 and method 2 ( $p = 0.0006$ ), and between pathomorphological findings and the results produced by methods 1–3, especially method 2 ( $p < 0.004$ ). AP ROI brightness did not correlate with other results. The presence of hyperechoic components (calcifications) in AP dramatically reduced the reliability of US-based intraplaque neovascularization assessment. The most accurate CEUS-based quantitative method for assessing intraplaque neovascularization is estimation of blood vessel number per 1 cm<sup>2</sup> of the plaque.

**Keywords:** atherosclerosis, carotid artery, intraplaque neovascularization, contrast-enhanced ultrasonography, Sonovue, visual scale, quantitative analysis, histopathological examination

**Funding:** this study was supported by Research Center of Neurology Government funding.

**Acknowledgment:** the authors thank Skrylev SI, Shchipakin VL and Koshcheev AYU (Vascular and Endovascular Surgery Unit, Research Center of Neurology) for providing biopsy specimens.

**Author contribution:** Evdokimenko AN — literature analysis, study design, data acquisition and interpretation, manuscript preparation; Chechetkin AO — literature analysis, study design, data acquisition and interpretation, manuscript revision; Druina LD — data acquisition; Tanashyan MM — study design, manuscript revision.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Research Center of Neurology (Protocol № 4/15 dated April 22, 2015). Informed consent was obtained from all study participants.

✉ **Correspondence should be addressed:** Anna N. Evdokimenko  
Volokolamskoe shosse 80, Moscow, 125367; evdokimenko@neurology.ru

**Received:** 15.08.2019 **Accepted:** 30.08.2019 **Published online:** 31.08.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.057

Атеросклероз каротидного синуса (КС) обуславливает развитие до трети всех ишемических инсультов, основная причина которых — дестабилизация структуры атеросклеротической бляшки (АСБ) с развитием атеротромбоза, атеро- или тромбозомболии церебральных артерий [1, 2]. К морфологическим маркерам нестабильной структуры АСБ относят крупные очаги атероматоза, истончение и изъязвление покрышки, кровоизлияния и выраженную воспалительную реакцию [2, 3]. В последние годы в данный перечень была включена неоваскуляризация вследствие большого количества накопленных данных, свидетельствующих о ключевой роли новообразованных сосудов в процессе дестабилизации АСБ и прогрессирования атеросклероза [1, 3–6].

Одним из наиболее широко применяемых методов оценки степени неоваскуляризации *in vivo* является контраст-усиленное ультразвуковое исследование (КУУЗИ). С момента первого применения КУУЗИ для оценки неоваскуляризации АСБ КС в 2003 г. [7] точность и надежность метода были подтверждены многочисленными исследованиями на животных и людях, продемонстрировавших высокую корреляцию ультразвуковых и морфологических данных [8–9].

Несмотря на 15-летнюю историю применения КУУЗИ для оценки неоваскуляризации АСБ КС, до сих пор отсутствует консенсус в отношении подходов к интерпретации результатов. В большинстве исследований применяют качественную или полуколичественную шкалу, хотя все авторы указывают на субъективность такого подхода, невозможность его использования для динамического наблюдения за течением атеросклеротического процесса и необходимость разработки более надежного и объективного метода [6, 10]. Единого мнения в отношении подходов к количественной оценке результатов КУУЗИ также достигнуто не было [9–11]. Кроме того, исследования с морфологической верификацией данных КУУЗИ немногочисленны, а полученные данные зачастую требуют подтверждения или уточнения.

В настоящее время необходимость разработки единого подхода к точной, надежной и воспроизводимой оценке результатов КУУЗИ приобретает особое значение в связи с разработкой эхоконтрастных препаратов, проходящих доклинические испытания и предназначенных уже для молекулярной визуализации сосудистого фенотипа *in vivo* и таргетной доставки веществ [12, 13]. Данные препараты открывают широкие возможности для реализации эффективной персонализированной стратегии профилактики, диагностики и лечения пациентов с атеросклерозом КС, однако при отсутствии стандартизированного метода оценки результатов КУУЗИ внедрение новых методов станет затруднительным.

Целью исследования было установить наиболее надежный и информативный метод оценки неоваскуляризации АСБ КС по данным КУУЗИ для использования в широкой клинической практике.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

### Исследованная популяция

Исследование проводили в ФГБНУ «Научный центр неврологии» в период с 2015 по 2018 г. Критерии включения в исследование: наличие у пациента атеросклеротического поражения КС и показаний к проведению каротидной эндалтерэктомии в соответствии

с Национальными российскими рекомендациями по ведению пациентов с заболеваниями брахиоцефальных артерий [14]. Критерии исключения: наличие в бляшке крупных кальцификатов по данным УЗИ (> 50% от площади бляшки), акустическая тень от которых не позволяла объективно оценивать неоваскуляризацию бляшки. В исследовании приняли участие 73 пациента (50 мужчин и 23 женщины в возрасте от 40 до 79 лет; средний возраст  $63 \pm 8$  лет) с атеросклеротическими стенозами КС  $\geq 50\%$  (50–90%, в среднем  $70 \pm 16\%$ ), определяемыми по методу NASCET в соответствии с существующими ультразвуковыми критериями [15]. Всем пациентам была выполнена каротидная эндалтерэктомия в ФГБНУ НЦН в период с 1 января 2015 по 31 декабря 2017 г. (у 5 пациентов с двух сторон); проведено последующее морфологическое исследование удаленных АСБ. В общей сложности проанализировано 78 АСБ КС. Оперированные стенозы имели симптомное течение в 25 случаях (32%) и асимптомное — в 53 случаях (68%).

### Стандартное и контраст-усиленное УЗИ

До операции всем пациентам было выполнено стандартное дуплексное сканирование сонных артерий, а также КУУЗИ включенных в исследование АСБ в продольной плоскости сканирования. Все УЗИ проводили на приборе iU22 (Philips Healthcare NV; Нидерланды) линейным датчиком L9-3.

При дуплексном сканировании определяли экзогенность АСБ, степень стеноза сонных артерий и область наилучшей визуализации АСБ для последующего проведения КУУЗИ. Экзогенность бляшки относили к 1 из 4 категорий по классификации A. Gray-Weale [16]: 1 — гомогенные гипозоногенные; 2 — гетерогенные с преобладанием гипозоногенного компонента; 3 — гетерогенные с преобладанием гиперэхогенного компонента; 4 — гомогенные гиперэхогенные.

Для проведения КУУЗИ в периферическую вену пациентов внутривенно болюсно вводили 2,4 мл эхоконтрастного препарата «Соноvue» (Bracco; Италия), растворенного в 5 мл 0,9%-го физиологического раствора, с последующим введением 5 мл физиологического раствора через тот же внутривенный катетер. Исследование выполняли, активируя на приборе опцию работы с контрастами (Contrast General), при низком механическом индексе (0,06) и усилении сигнала 85%. С момента введения «Соноvue» на приборе осуществляли запись видеоклипа АСБ КС в течение 2 мин, при этом датчик удерживали неподвижно до момента достижения стабильного контрастирования просвета артерии, после чего начинали постепенно изменять угол наклона датчика для визуализации всей площади бляшки.

Анализ видеоклипа КУУЗИ АСБ проводили на персональном компьютере, оснащенном рабочей станцией с программным обеспечением QLAB (Philips Healthcare NV; Нидерланды). Признаком неоваскуляризации были изменявшиеся во времени динамичные гиперэхогенные сигналы (ДГЭС) в толще АСБ, получаемые от микропузырьков введенного контрастного препарата, тогда как статичные гиперэхогенные сигналы расценивали как кальцификаты. Оценку неоваскуляризации проводили с помощью четырех методов в программе QLAB.

1. Полуколичественной оценки неоваскуляризации по 4-балльной шкале (метод 1): 0 — отсутствие ДГЭС; 1 — единичные ДГЭС; 2 — умеренное количество ДГЭС; 3 — значительное количество ДГЭС.

2. Трех методов количественной оценки (см. рис.), при которых из кинопетли при КУУЗИ выбирали кадр с визуально наибольшим количеством сосудов. Кадр анализировали следующим образом:

а) определяли количество ДГЭС на единицу площади АСБ ( $1 \text{ см}^2$ ) (метод 2), для чего на выбранном кадре вручную обводили контур АСБ и в его пределах подсчитывали количество отдельно расположенных ДГЭС. Искомую величину получали путем деления количества сигналов на автоматически определенную площадь обведенной АСБ;

б) определяли соотношение площади ДГЭС и площади бляшки (%) (метод 3), для чего на выбранном кадре вручную обводили контур АСБ и контур всех ДГЭС. Искомую величину получали путем деления суммы площадей обведенных сигналов на площадь обведенной АСБ и умножения полученного значения на 100%;

в) определяли ROI (интенсивность УЗ-сигнала) бляшки (метод 4), для чего на выбранном кадре вручную обводили область интереса — всю бляшку, по возможности исключая статичные гиперэхогенные сигналы (кальцификаты), и программа автоматически рассчитывала значение ROI в дБ.

### Морфологическое исследование

Всего при операции было фрагментировано и исключено из анализа 13 АСБ. Удаленные при каротидной эндартерэктомии 65 АСБ фиксировали в 10%-м растворе формалина на фосфатном буфере (рН 7,4) и исследовали на всем протяжении. Бляшки в зависимости от длины разрезали на 4–9 блоков толщиной 0,3 см в плоскости, перпендикулярной оси сосуда; блоки заливали в парафин. Срезы с каждого блока толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и по методу ван Гизона, после чего сканировали с помощью аппарата Aperio AT2 (Leica Biosystems; Германия) при 400-кратном увеличении изображения.

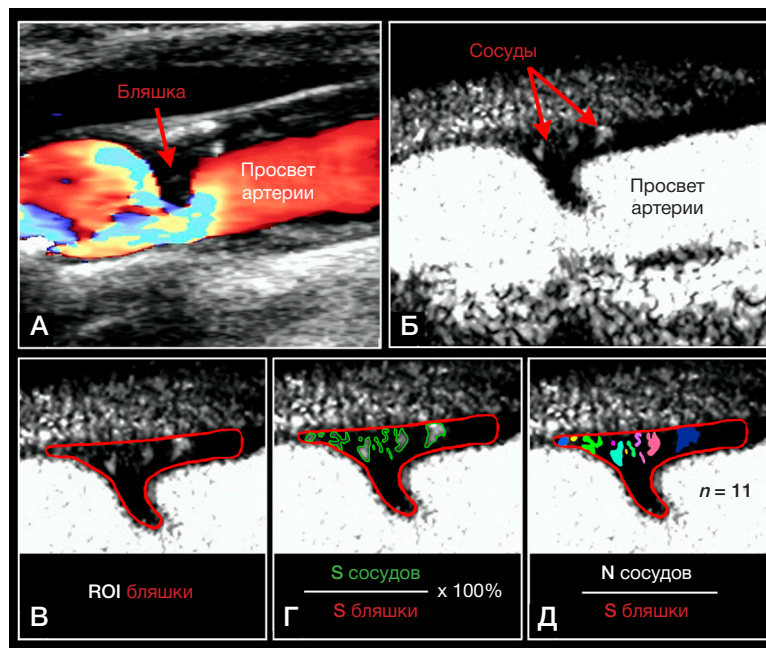
Неоваскуляризацию бляшек анализировали в программе Aperio ImageScope (Leica Biosystems; Германия) версии 11.2.0.780. Сосуды определяли как выстланные эндотелием структуры, имеющие просвет. Оценивали общую плотность расположения сосудов на  $1 \text{ см}^2$  бляшки (результат деления общего количества сосудов во всех срезах на сумму площадей этих срезов). С учетом ограничения разрешающей способности КУУЗИ анализировали плотность расположения сосудов определенного диаметра ( $< 20$ ,  $\geq 20$ ,  $\geq 30$ ,  $\geq 40$ ,  $\geq 50$  мкм). При косом или продольном сечении сосуда его диаметр определяли как поперечный размер в наиболее широком участке.

### Статистический анализ

Статистический анализ проводили в пакете Statistica 10.0 (StatSoft; США). Для выявления статистических различий и корреляционных связей применяли непараметрический U-критерий Манна-Уитни и коэффициент корреляции Спирмена. Во всех случаях порог статистической значимости ( $p$ ) составлял 0,05. Данные представлены в следующем виде: медиана (Me) (квартиль 1 (Q1); квартиль 3 (Q3)).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По результатам стандартного дуплексного сканирования, подавляющее большинство АСБ имели гетерогенную структуру (81%) с преобладанием гипозоногенного компонента (51%) (табл. 1). В 67% бляшек встречались небольшие или среднего размера кальцификаты. Сосуды при КУУЗИ были обнаружены во всех бляшках, при этом ни один из применяемых методов оценки степени неоваскуляризации АСБ не выявил значимых различий между разными типами АСБ по классификации A. Gray-Weale [16] (см. табл. 1).



**Рис.** Количественные методы оценки неоваскуляризации атеросклеротической бляшки каротидного синуса с помощью КУУЗИ. **А.** Гетерогенная атеросклеротическая бляшка с преобладанием гипозоногенного компонента при стандартном дуплексном сканировании в режиме цветового доплеровского картирования. **Б.** Исследование с контрастным усилением: атеросклеротическая бляшка гипозоногенная с отдельными гиперэхогенными сигналами (сосуды, указаны стрелками), просвет артерии и окружающие ткани гиперэхогенные. **В–Д.** Способы количественного обседа неоваскуляризации бляшки на 1 кадре с визуально наибольшим количеством сосудов (контур бляшки обозначен красным цветом): расчет интенсивности ультразвукового сигнала (ROI) (**В**); расчет соотношения площадей сосудов и бляшки (сосуды обведены зеленым цветом) (**Г**); расчет количества сосудов на  $1 \text{ см}^2$  бляшки (сосуды выделены разными цветами) (**Д**)



Согласно данным полуколичественной оценки результатов КУУЗИ (метод 1), преобладали АСБ с умеренным и небольшим количеством ДГЭС (2 балла и 1 балл по шкале оценки соответственно), составив 51% и 37% всех АСБ. АСБ со значительным количеством ДГЭС (3 балла по шкале оценки) выявляли более чем в 3 раза реже (12% всех АСБ). При сопоставлении данных ультразвукового и морфологического исследований отмечена тенденция к повышению количества сосудов на 1 см<sup>2</sup> бляшки с увеличением балла по шкале оценки результатов КУУЗИ. Тем не менее значимое отличие в степени неоваскуляризации АСБ по данным морфологического исследования отмечено лишь для группы АСБ с единичными ДГЭС (табл. 2).

Результаты трех методов количественного анализа данных КУУЗИ продемонстрировали значительную вариабельность степени неоваскуляризации АСБ: количество ДГЭС на 1 см<sup>2</sup> бляшки (метод 2) составило 16 сигналов/см<sup>2</sup> (10; 26); соотношение площадей ДГЭС и бляшки (метод 3) — 6% (3; 9); значение ROI АСБ (метод 4) — 2,6 дБ (1,8; 4,1). Корреляционный анализ продемонстрировал наличие прямой зависимости между результатами оценки по методам 2 и 3 ( $R = 0,45$ ;  $p = 0,000034$ ), а также по методам 3 и 1 ( $R = 0,38$ ;  $p = 0,0006$ ). Значение ROI с результатами других методов оценки не коррелировало.

Выявлена значимая корреляционная зависимость между морфологическими данными и результатами трех методов оценки степени неоваскуляризации АСБ с помощью КУУЗИ (методы 1–3), особенно метода 2 (определение количества ДГЭС на 1 см<sup>2</sup> АСБ) (табл. 3). Последний метод также позволил провести прямое сопоставление результатов ультразвукового и морфологического исследований, в результате чего был

установлен средний диаметр сосудов, которые могут быть выявлены при КУУЗИ — 30 мкм (22; 37).

Кроме того, для оценки влияния гиперэхогенного компонента на результат КУУЗИ был проведен дополнительный корреляционный анализ данных ультразвукового и морфологического исследований в группах трех разных типов бляшек по классификации Gray-Weale (табл. 4). Обнаружено, что с увеличением объема гиперэхогенного компонента значимость корреляционной зависимости между данными КУУЗИ и морфологии, а также надежность УЗ-оценки неоваскуляризации резко снижаются. Так, количество ДГЭС на 1 см<sup>2</sup> бляшки по данным КУУЗИ (метод 2), наиболее высоко коррелировавшее с результатами морфологического исследования в общей группе бляшек, продемонстрировало еще более высокий результат в группе бляшек с преобладанием гипоэхогенного компонента, тогда как в двух других группах АСБ результат корреляционного анализа оказался сомнительным (см. табл. 4). Соотношение площадей ДГЭС и бляшки (метод 3) коррелировало с морфологическими данными только в группе АСБ с преобладанием гипоэхогенного компонента (см. табл. 4). Что касается полуколичественного метода оценки неоваскуляризации, то результаты анализа в разных группах бляшек оказались противоречивыми (см. табл. 4).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Большое внимание в литературе при оценке результатов КУУЗИ уделено именно визуальным шкалам, поскольку несмотря на определенную долю субъективности они достаточно просты и занимают мало времени в исполнении, что позволяет их использовать в широкой рутинной практике без наличия специальных программ

**Таблица 1.** Степень неоваскуляризации 4 типов атеросклеротических бляшек каротидного синуса по классификации Gray-Weale

	Структура бляшки			
	1-й тип	2-й тип	3-й тип	4-й тип
Количество бляшек	3	40	23	12
Из них исследованных морфологически	2	33	20	10
Неоваскуляризация, Ме (Q1; Q3)				
Контраст-усиленное УЗИ				
Метод 1 (баллы)	1	1 (1; 2)	1 (1; 2)	2 (1; 2)
Метод 2 (сигналов/см <sup>2</sup> )	9 (5; 13)	13 (10,5; 25)	20 (11; 29)	20,5 (9,5; 33,5)
Метод 3 (%)	3 (0,4; 5)	6 (3; 7)	7 (3; 11)	8,5 (5; 15)
Метод 4 (дБ)	2,8 (2,2; 3,1)	2,7 (1,6; 4,2)	2,4 (1,9; 5,5)	2,7 (2,1; 3,4)
Морфологическое исследование, количество сосудов на 1 см <sup>2</sup> бляшки	62, 111	161 (96; 253)	90 (61; 305)	230 (125; 300)

**Таблица 2.** Сопоставление результатов полуколичественной оценки данных КУУЗИ и результатов морфологического исследования неоваскуляризации атеросклеротических бляшек каротидного синуса (\* —  $p \leq 0,03$ )

	Балл по шкале полуколичественной оценки степени неоваскуляризации бляшки с помощью КУУЗИ		
	1 балл (n = 40)	2 балла (n = 29)	3 балла (n = 9)
Количество сосудов определенного диаметра на 1 см <sup>2</sup> бляшки, Ме (Q1; Q3)			
Все сосуды	108,6 (55,3; 182,4)*	168,6 (125; 356,8)	370 (229; 485)
Сосуды диаметром < 20 мкм	66,5 (40,8; 111,4)*	117,4 (70,8; 216,8)	277,3 (174,5; 332)
Сосуды диаметром ≥ 20 мкм	30,5 (9,6; 54,7)*	55,8 (38; 90,2)	90,2 (38,4; 131,8)
Сосуды диаметром ≥ 30 мкм	13,2 (2,4; 26,1)*	25,5 (12,8; 46,7)	41,4 (13,4; 50,3)
Сосуды диаметром ≥ 40 мкм	5,5 (1,2; 13,9)*	11,9 (6,2; 23,1)	17,5 (5,8; 25,4)
Сосуды диаметром ≥ 50 мкм	2,2 (0; 7,6)*	5,9 (3,4; 12,6)	8,8 (2,9; 15,2)



для количественного обсчета. Описано более 10 подходов к полуколичественной оценке неоваскуляризации АСБ КС с использованием визуальных шкал от 2 до 5 баллов. При этом в большинстве шкал помимо количества ДГЭС учитывают их расположение [8, 17–22], гораздо реже оценивают только количество ДГЭС [17, 23, 24]. Все шкалы, учитывающие расположение ДГЭС, подразумевают прямую зависимость увеличения количества ДГЭС и их распространения в направлении от адвентиции к поверхности бляшки. При выборе шкалы оценки у нас возник ряд сложностей с применением шкал данного типа, поскольку все выявленные нами паттерны неоваскуляризации АСБ не укладывались ни в одну из данных шкал. В этой связи мы остановились на более простых монопараметрических шкалах, взяв за основу стандартную 4-балльную шкалу оценки количества ДГЭС, сходную с уже предложенной в литературе [24]. Ее автор, правда, предлагал относить к бляшкам с «выраженной» степенью васкуляризации (3-я степень) только бляшки,

в которых выявлены крупные сосуды по типу артерий без уточнения их характеристик. Однако полученные нами результаты как КУУЗИ, так и морфологического исследования продемонстрировали наличие слабо васкуляризированных АСБ с крупными сосудами по типу артерий, а также обильно васкуляризированных АСБ без крупных сосудов по типу артерий, на основании чего было принято решение не учитывать калибр сосудов при полуколичественной оценке.

Сопоставление значений плотности расположения сосудов в АСБ, определенной при морфологическом исследовании, между тремя группами бляшек различной степени неоваскуляризации по данным выбранной нами 4-балльной визуальной шкалы продемонстрировало значимое отличие лишь группы слабо васкуляризированных бляшек с единичными ДГЭС от групп с умеренным и значительным количеством ДГЭС. В то же время результаты КУУЗИ с использованием данной шкалы, как и в случае с визуальными шкалами, предлагаемыми другими

**Таблица 3.** Корреляционный анализ результатов оценки неоваскуляризации в атеросклеротической бляшке каротидного синуса с помощью КУУЗИ и морфологического исследования ( $n = 65$ )

Морфологическое исследование — плотность расположения сосудов определенного диаметра:	КУУЗИ — степень неоваскуляризации бляшки, оцененная разными методами							
	Метод 1		Метод 2		Метод 3		Метод 4	
	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>
Все сосуды	0,45	0,00019	0,41	0,00069	0,23	0,06545	–0,04	0,75
< 20 мкм	0,43	0,00033	0,36	0,0034	0,18	0,15532	–0,07	0,6
≥ 20 мкм	0,45	0,00017	0,52	0,00001	0,37	0,00257	0	0,99
≥ 30 мкм	0,41	0,00068	0,57	0	0,36	0,00338	0,03	0,82
≥ 40 мкм	0,41	0,00074	0,6	0	0,35	0,00438	0,02	0,89
≥ 50 мкм	0,4	0,00102	0,6	0	0,32	0,01103	0,03	0,81

**Таблица 4.** Корреляционный анализ результатов оценки неоваскуляризации в атеросклеротических бляшках каротидного синуса разных типов по классификации Gray–Weale с помощью КУУЗИ и морфологического исследования

Морфологическое исследование — плотность расположения сосудов определенного диаметра:	КУУЗИ — степень неоваскуляризации бляшки, оцененная разными методами					
	Метод 1		Метод 2		Метод 3	
	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>
<b>Гетерогенные бляшки с преобладанием гипоксогогенного компонента, тип 2 (<math>n = 33</math>)</b>						
Все сосуды	0,34	0,05493	0,43	0,01164	0,06	0,73935
< 20 мкм	0,3	0,08642	0,35	0,04485	–0,01	0,96716
≥ 20 мкм	0,41	0,01825	0,67	0,00002	0,33	0,06705
≥ 30 мкм	0,34	0,05633	0,72	0	0,3	0,0897
≥ 40 мкм	0,4	0,02162	0,74	0	0,43	0,01507
≥ 50 мкм	0,45	0,00857	0,79	0	0,47	0,00718
<b>Гетерогенные бляшки с преобладанием гиперэкзогенного компонента, тип 3 (<math>n = 20</math>)</b>						
Все сосуды	0,5	0,02512	0,41	0,07403	0,14	0,5446
< 20 мкм	0,47	0,03701	0,45	0,04716	0,21	0,38029
≥ 20 мкм	0,52	0,01815	0,41	0,07345	0,22	0,35255
≥ 30 мкм	0,51	0,02294	0,43	0,06146	0,15	0,52769
≥ 40 мкм	0,38	0,10226	0,41	0,07068	0,12	0,60956
≥ 50 мкм	0,34	0,1424	0,4	0,0782	0,15	0,51773
<b>Гомогенные гиперэкзогенные бляшки, тип 4 (<math>n = 10</math>)</b>						
Все сосуды	0,62	0,05444	0,21	0,5667	0,41	0,23349
< 20 мкм	0,71	0,02047	0,06	0,86751	0,27	0,44295
≥ 20 мкм	0,43	0,21702	0,36	0,3088	0,43	0,21862
≥ 30 мкм	0,13	0,7209	0,46	0,17886	0,3	0,4017
≥ 40 мкм	0,25	0,49232	0,67	0,03451	0,21	0,55384
≥ 50 мкм	0,22	0,53903	0,61	0,06125	0,18	0,61791

авторами [8, 20, 23, 24], показали значимую корреляцию с морфологическими данными. При анализе различных по экзогенности бляшек мы не смогли четко подтвердить надежность предлагаемого полуколичественного метода оценки в связи с противоречивыми результатами корреляционного анализа в группах бляшек разных типов по классификации A. Gray-Weale [16]. Причин расхождения результатов могло быть несколько: небольшой размер анализируемых групп, субъективный подход к градации степени неоваскуляризации без четких критериев оценки, а также часто выявляемые в АСБ кальцификаты, которые могли обусловить как недооценку, так и переоценку степени неоваскуляризации [25]. В 67% АСБ при дуплексном сканировании выявляли небольшие или среднего размера кальцификаты, которые могли быть ошибочно приняты за сосуды при КУУЗИ. Сложность дифференцировки сосудов и небольших кальцификатов также связана с впервые выявленным нами сходным паттерном их визуализации при КУУЗИ — большинство кальцификатов небольшого и среднего размеров становилось видимым только по мере заполнения сосудистого русла бляшки контрастом, что может быть связано с отмеченным в литературе изменением отражающей способности ткани в этих участках [26]. Кроме того, морфологическое исследование выявило частое расположение сосудов в непосредственной близости от кальцификатов, что также могло осложнить их выявление при КУУЗИ вследствие ограниченной разрешающей способности прибора.

Что касается количественного анализа результатов КУУЗИ, то в литературе описано три принципиально различающихся подхода, которые были применены в данной работе: наиболее распространенная оценка интенсивности сигнала в области интереса (контрастированной бляшке), определение соотношения площадей ДГЭС и бляшки, а также подсчет количества ДГЭС на 1 см<sup>2</sup> АСБ. Мы не выявили взаимосвязи между значением ROI бляшки и плотностью расположения сосудов по данным морфологии, а также результатами других методов оценки неоваскуляризации при КУУЗИ. В ряде исследований, в которых проводили морфологическую верификацию результатов КУУЗИ, основанных на оценке ROI, авторы демонстрировали успешность такого подхода [20, 27, 28], хотя объем выборки в них, как правило, был небольшой или была применена менее точная полуколичественная оценка неоваскуляризации при морфологическом исследовании. Другие авторы выявили корреляцию между интенсивностью сигнала при КУУЗИ и результатами морфологического исследования только для стабильных бляшек [8]. На интенсивность УЗ-сигнала оказывают влияние разные факторы, например индивидуальные показатели эхоотражающих свойств ткани; степень обызвествления бляшки (особенно мелкие и пылевидные кальцификаты, которые невозможно исключить из области анализа); преимущественная локализация бляшки по передней или задней стенке артерий; небольшие изменения параметров яркости и контрастности изображения при оценке, которые сложно стандартизировать, и др. [2, 25, 26]. Все вышеуказанные факторы могли стать причиной полученного нами результата. Кроме того, во всех приведенных в литературе исследованиях авторы использовали не абсолютное, а скорректированное значение интенсивности УЗ-сигнала: соотношение значений ROI бляшки и просвета сосуда [8, 17] или прилегающей неизмененной стенки [27]; разницу значений ROI бляшки до и после введения контраста [18, 20];

многокомпонентный алгоритм, учитывающий несколько факторов [12, 22], и др. [28]. Мы специально использовали абсолютное значение ROI, которое можно оценить на самом приборе без дополнительных математических вычислений, что было бы сопоставимо по скорости и удобству с визуальной шкалой, при этом предоставляло возможность динамического наблюдения за течением атеросклеротического процесса. Тем не менее полученные результаты свидетельствуют о том, что использование значения ROI при оценке степени неоваскуляризации требует учета большого количества факторов и введения поправочных коэффициентов.

Результаты второго использованного нами количественного метода оценки, определения соотношения площадей ДГЭС и бляшки, не отражали общего количества сосудов в бляшке или плотности расположения в ней мелких сосудов диаметром до 20 мкм, составляющих до 96% всех сосудов бляшки по литературным данным [29]. Тем не менее как в общей группе бляшек, так и в группе бляшек с преобладанием гипозоногенного компонента, результаты КУУЗИ коррелировали с плотностью расположения сосудов более крупного калибра ( $\geq 20$  мкм и  $\geq 40$  мкм соответственно) по данным морфологии. Анализ различных по экзогенности типов бляшек также продемонстрировал, что применение данного метода нельзя рекомендовать при оценке бляшек с выраженным гиперэхогенным компонентом, поскольку корреляционная зависимость между ультразвуковыми и морфологическими данными в группах бляшек 3-го и 4-го типов по классификации A. Gray-Weale отсутствовала. Последнее можно объяснить недооценкой или переоценкой степени неоваскуляризации при КУУЗИ при наличии в бляшке кальцификатов, что было описано выше. Авторы, разработавшие и применившие данный метод, отметили высокую корреляцию результатов КУУЗИ с общей плотностью расположения сосудов в бляшке по данным морфологии [10]. Отсутствие такой корреляционной зависимости в нашем исследовании можно объяснить различными подходами к расчету показателя: мы использовали коммерчески доступное программное обеспечение QLAB и обводили ДГЭС вручную, тогда как A. Hoogi с коллегами использовали специально разработанный автоматизированный алгоритм на базе Matlab (Mathworks). Кроме того, точность ручного способа выделения ДГЭС может значительно снижаться с уменьшением размера сигналов (сосудов). Тем не менее с учетом литературных данных о наличии высокой корреляции между плотностью расположения сосудов различного диаметра в АСБ [29], а также полученных нами данных о возможности надежного выявления при КУУЗИ сосудов диаметром более 30 мкм, использованный нами подход можно применять для количественной оценки неоваскуляризации в АСБ КС при отсутствии выраженного гиперэхогенного компонента, однако для повышения точности результата рекомендуется использовать автоматизированный алгоритм расчета показателя.

Подсчет количества ДГЭС на 1 см<sup>2</sup> АСБ продемонстрировал высокую корреляцию с морфологическими данными как в общей группе бляшек, так и в группе бляшек с преобладанием гипозоногенного компонента. В группе АСБ с выраженным гиперэхогенным компонентом результаты, как и в случае с другими методами количественной оценки, были не столь убедительными, что свидетельствует о необходимости разработки комплексного автоматизированного алгоритма анализа бляшек 3-го и 4-го типов при КУУЗИ для надежной

оценки неоваскуляризации. В литературе отсутствуют данные по сопоставлению результатов морфологического исследования и КУУЗИ с использованием данного подхода. В одном из исследований был применен сходный метод оценки неоваскуляризации при КУУЗИ [12], однако авторы не проводили морфологическую верификацию результатов и использовали при анализе разработанный на базе MevisLab автоматизированный алгоритм. Они провели сопоставление методов полуколичественной и количественной оценки неоваскуляризации на основе определения значения ROI, площади и количества ДГЭС в бляшке, продемонстрировав наличие корреляционной взаимосвязи между величиной соотношения площадей ДГЭС и бляшки, количеством ДГЭС на 1 см<sup>2</sup> бляшки и результатами визуальной оценки, при этом взаимосвязь усиливалась при исключении из анализа гиперэхогенных АСБ.

## ВЫВОДЫ

Метод КУУЗИ является информативным способом визуализации сосудистой сети АСБ КС, позволяющим быстро и надежно оценить степень неоваскуляризации

бляшек без выраженного гиперэхогенного компонента с использованием широко распространенного программного обеспечения QLAB. Наиболее надежный и удобный способ количественной оценки неоваскуляризации АСБ — подсчет количества ДГЭС на 1 см<sup>2</sup> бляшки на 1 кадре с визуальным наибольшим количеством сигналов, его результаты высоко коррелировали с данными морфологического исследования всей бляшки. Расчет соотношения площадей ДГЭС и бляшки также может быть использован, однако это более трудоемкий и менее надежный способ. Абсолютное значение ROI бляшки для данной цели использовать не рекомендуется. Полуколичественный метод оценки с помощью 2- или 3-балльной визуальной шкалы рекомендуется применять только как качественный экспресс-метод оценки наличия сосудистого компонента в АСБ. Гиперэхогенный компонент в АСБ оказывает значительное влияние на результат КУУЗИ, на основании чего для достоверной оценки неоваскуляризации АСБ необходима разработка алгоритма, позволяющего автоматически выявлять и исключать из анализа не только крупные, но особенно мелкие и среднего размера кальцификаты.

## Литература

1. Dunmore BJ, McCarthy MJ, Naylor AR, Brindle NPJ. Carotid plaque instability and ischemic symptoms are linked to immaturity of microvessels within plaques. *J Vasc Surg.* 2007; 45 (1): 155–9. DOI:10.1016/j.jvs.2006.08.072.
2. Filis K, Toufektzian L, Galyfos G, et al. Assessment of the vulnerable carotid atherosclerotic plaque using contrast-enhanced ultrasonography. *Vascular.* 2017; 25 (3): 316–25. DOI:10.1177/1708538116665734.
3. Гулевская Т. С., Моргунев В. А., Ануфриев П. Л. Структура атеросклеротических бляшек каротидного синуса и нарушения мозгового кровообращения. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2010; 4 (1): 13–19.
4. Тухбатуллин М. Г., Баязова Н. И., Закиржанов Н. Р., и др. Применение контрастного усиления при ультразвуковом исследовании атеросклеротической бляшки в сонных артериях у пациентов с нарушением мозгового кровообращения. *Практическая медицина.* 2017; 103 (2): 124–9.
5. Jeziorska M, Woolley DE. Local neovascularization and cellular composition within vulnerable regions of atherosclerotic plaques of human carotid arteries. *J Pathol.* 1999; 188 (2): 189–96.
6. Saha SA, Gourineni V, Feinstein SB. The Use of Contrast-enhanced Ultrasonography for Imaging of Carotid Atherosclerotic Plaques: Current Evidence, Future Directions. *Neuroimaging Clin N Am.* 2016; 26 (1): 81–96. DOI:10.1016/j.nic.2015.09.007.
7. Feinstein SB. The powerful microbubble: from bench to bedside, from intravascular indicator to therapeutic delivery system, and beyond. *Am J Physiol Circ Physiol.* 2004; 287 (2): H450–7. DOI:10.1152/ajpheart.00134.2004.
8. Coli S, Magnoni M, Sangiorgi G, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of intraplaque neovascularization in carotid arteries: correlation with histology and plaque echogenicity. *J Am Coll Cardiol.* 2008; 52 (3): 223–30. DOI:10.1016/j.jacc.2008.02.082.
9. Hoogi A, Adam D, Hoffman A, Kerner H, Reisner S, Gaitini D. Carotid plaque vulnerability: quantification of neovascularization on contrast-enhanced ultrasound with histopathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol.* 2011; 196 (2): 431–6. DOI:10.2214/AJR.10.4522.
10. Varetto G, Gibello L, Castagno C, et al. Use of Contrast-Enhanced Ultrasound in Carotid Atherosclerotic Disease: Limits and Perspectives. *Biomed Res Int [Internet].* 2015; 2015 (Article ID 293163): [about 7 p.]. Available from: <https://DOI.org/10.1155/2015/293163>.
11. van den Oord S, Akkus Z, Bosch J, et al. Quantitative Contrast-Enhanced Ultrasound of Intraplaque Neovascularization in Patients with Carotid Atherosclerosis. *Ultraschall der Medizin — Eur J Ultrasound.* 2014; 36 (02): 154–61. DOI:10.1055/s-0034-1366410.
12. Feinstein SB. The Evolution of Contrast Ultrasound: From Diagnosis to Therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2016; 67 (21): 2516–8. DOI:10.1016/j.jacc.2016.04.004.
13. Moccetti F, Weinkauff CC, Davidson BP, et al. Ultrasound Molecular Imaging of Atherosclerosis Using Small-Peptide Targeting Ligands Against Endothelial Markers of Inflammation and Oxidative Stress. *Ultrasound Med Biol.* 2018; 44 (6): 1155–63. DOI:10.1016/j.ultrasmedbio.2018.01.001.
14. Национальные рекомендации по ведению пациентов с заболеваниями брахиоцефальных артерий. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2013; 19 (2) (приложение): 1–72.
15. von Reutern G-M, Goertler M-W, Bornstein NM, et al. Grading Carotid Stenosis Using Ultrasonic Methods. *Stroke.* 2012; 43 (3): 916–21. DOI:10.1161/STROKEAHA.111.636084.
16. Gray-Weale AC, Graham JC, Burnett JR, Byrne K, Lusby RJ. Carotid artery atheroma: comparison of preoperative B-mode ultrasound appearance with carotid endarterectomy specimen pathology. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 1988; 29 (6): 676–81.
17. Cattaneo M, Staub D, Porretta AP, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of intraplaque neovascularization and its correlation to plaque echogenicity in human carotid arteries atherosclerosis. *Int J Cardiol.* 2016; 223: 917–22. DOI:10.1016/j.ijcard.2016.08.261.
18. Huang PT, Chen CC, Aronow WS, et al. Assessment of neovascularization within carotid plaques in patients with ischemic stroke. *World J Cardiol.* 2010; 2 (4): 89–97. DOI:10.4330/wjc.v2.i4.89.
19. Iezzi R, Petrone G, Ferrante A, et al. The role of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in visualizing atherosclerotic carotid plaque vulnerability: which injection protocol? Which scanning technique? *Eur J Radiol.* 2015; 84 (5): 865–71. DOI:10.1016/j.ejrad.2015.01.024.
20. Li C, He W, Guo D, et al. Quantification of carotid plaque neovascularization using contrast-enhanced ultrasound with histopathologic validation. *Ultrasound Med Biol.* 2014; 40 (8): 1827–33. DOI:10.1016/j.ultrasmedbio.2014.02.010.
21. Staub D, Patel MB, Tibrewala A, et al. Vasa vasorum and plaque

- neovascularization on contrast-enhanced carotid ultrasound imaging correlates with cardiovascular disease and past cardiovascular events. *Stroke*. 2010; 41 (1): 41–7. DOI:10.1161/STROKEAHA.109.560342.
22. Xiong L, Deng Y-B, Zhu Y, Liu Y-N, Bi X-J. Correlation of Carotid Plaque Neovascularization Detected by Using Contrast-enhanced US with Clinical Symptoms. *Radiology*. 2009; 251 (2): 583–9. DOI:10.1148/radiol.2512081829.
  23. Müller HFG, Viacoz A, Kuzmanovic I, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of carotid plaque neo-vascularization: accuracy of visual analysis. *Ultrasound Med Biol*. 2014; 40 (1): 18–24. DOI:10.1016/j.ultrasmedbio.2013.08.012.
  24. Shah F, Balan P, Weinberg M, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of atherosclerotic carotid plaque neovascularization: a new surrogate marker of atherosclerosis? *Vasc Med*. 2007; 12 (4): 291–7. DOI:10.1177/1358863X07083363.
  25. Huang R, Abdelmoneim SS, Ball CA, et al. Detection of Carotid Atherosclerotic Plaque Neovascularization Using Contrast Enhanced Ultrasound: A Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Accuracy Studies. *J Am Soc Echocardiogr*. 2016; 29 (6): 491–502. DOI:10.1016/j.echo.2016.02.012.
  26. Thapar A, Shalhoub J, Averkiou M, Mannarín C, Davies AH, Leen ELS. Dose-Dependent Artifact in the Far Wall of the Carotid Artery at Dynamic Contrast-enhanced US. *Radiology*. 2011; 262 (2): 672–9. DOI:10.1148/radiol.11110968.
  27. Leo ND, Venturini L, De Soccio V, et al. Multiparametric ultrasound evaluation with CEUS and shear wave elastography for carotid plaque risk stratification. *J Ultrasound*. 2018; 21 (4): 293–300. DOI:10.1007/s40477-018-0320-7.
  28. Мещерякова О. М., Катрич А. Н., Виноградов Р. А. и др. Сравнительная оценка результатов количественного анализа ультразвукового исследования с контрастным усилением и патоморфологии в определении степени неонангиогенеза в атеросклеротических бляшках. *Ультразвуковая и функциональная диагностика*. 2018; (1): 43–59.
  29. Евдокименко А. Н., Ануфриев П. Л., Куличенкова К. Н., Гулевская Т. С., Танащян М. М. Морфометрическая характеристика неоваскуляризации атеросклеротических бляшек каротидного синуса. *Архив патологии*. 2018; 80 (2): 24–9. DOI:10.17116/ptol201880224-29.
- ### References
1. Dunmore BJ, McCarthy MJ, Naylor AR, Brindle NPJ. Carotid plaque instability and ischemic symptoms are linked to immaturity of microvessels within plaques. *J Vasc Surg*. 2007; 45 (1): 155–9. DOI:10.1016/j.jvs.2006.08.072.
  2. Filis K, Toufektzian L, Galyfos G, et al. Assessment of the vulnerable carotid atherosclerotic plaque using contrast-enhanced ultrasonography. *Vascular*. 2017; 25 (3): 316–25. DOI:10.1177/1708538116665734.
  3. Gulevskaya TS, Morgunov VA, Anufriev PL. Структура атеросклеротических бляшек каротидного синуса и нарушения мозгового кровообращения. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2010; 4 (1): 13–9. Russian.
  4. Tuhbatullin MG, Bayazova NI, Zakirzhanov NR, i dr. Применение контрастного усиления при ультразвуковом исследовании атеросклеротической бляшки в сонных артериях у пациентов с нарушением мозгового кровообращения. *Практическая медицина*. 2017; 103 (2): 124–9. Russian.
  5. Jeziorska M, Woolley DE. Local neovascularization and cellular composition within vulnerable regions of atherosclerotic plaques of human carotid arteries. *J Pathol*. 1999; 188 (2): 189–96.
  6. Saha SA, Gourineni V, Feinstein SB. The Use of Contrast-enhanced Ultrasonography for Imaging of Carotid Atherosclerotic Plaques: Current Evidence, Future Directions. *Neuroimaging Clin N Am*. 2016; 26 (1): 81–96. DOI:10.1016/j.nic.2015.09.007.
  7. Feinstein SB. The powerful microbubble: from bench to bedside, from intravascular indicator to therapeutic delivery system, and beyond. *Am J Physiol Circ Physiol*. 2004; 287 (2): H450–7. DOI:10.1152/ajpheart.00134.2004.
  8. Coli S, Magnoni M, Sangiorgi G, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of intraplaque neovascularization in carotid arteries: correlation with histology and plaque echogenicity. *J Am Coll Cardiol*. 2008; 52 (3): 223–30. DOI:10.1016/j.jacc.2008.02.082.
  9. Hoogi A, Adam D, Hoffman A, Kerner H, Reisner S, Gaitini D. Carotid plaque vulnerability: quantification of neovascularization on contrast-enhanced ultrasound with histopathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol*. 2011; 196 (2): 431–6. DOI:10.2214/AJR.10.4522.
  10. Varetto G, Gibello L, Castagno C, et al. Use of Contrast-Enhanced Ultrasound in Carotid Atherosclerotic Disease: Limits and Perspectives. *Biomed Res Int [Internet]*. 2015; 2015 (Article ID 293163): [about 7 p.]. Available from: <https://DOI.org/10.1155/2015/293163>.
  11. van den Oord S, Akkus Z, Bosch J, et al. Quantitative Contrast-Enhanced Ultrasound of Intraplaque Neovascularization in Patients with Carotid Atherosclerosis. *Ultraschall der Medizin — Eur J Ultrasound*. 2014; 36 (02): 154–61. DOI:10.1055/s-0034-1366410.
  12. Feinstein SB. The Evolution of Contrast Ultrasound: From Diagnosis to Therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2016; 67 (21): 2516–8. DOI:10.1016/j.jacc.2016.04.004.
  13. Moccetti F, Weinkauff CC, Davidson BP, et al. Ultrasound Molecular Imaging of Atherosclerosis Using Small-Peptide Targeting Ligands Against Endothelial Markers of Inflammation and Oxidative Stress. *Ultrasound Med Biol*. 2018; 44 (6): 1155–63. DOI:10.1016/j.ultrasmedbio.2018.01.001.
  14. Национальные рекомендации по ведению пациентов с заболеваниями брахиоцефальных артерий. *Angiology and vascular surgery*. 2013; 19 (2) (suppl.): 1–72. Russian.
  15. von Reutern G-M, Goertler M-W, Bornstein NM, et al. Grading Carotid Stenosis Using Ultrasonic Methods. *Stroke*. 2012; 43 (3): 916–21. DOI:10.1161/STROKEAHA.111.636084.
  16. Gray-Weale AC, Graham JC, Burnett JR, Byrne K, Lusby RJ. Carotid artery atheroma: comparison of preoperative B-mode ultrasound appearance with carotid endarterectomy specimen pathology. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 1988; 29 (6): 676–81.
  17. Cattaneo M, Staub D, Porretta AP, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of intraplaque neovascularization and its correlation to plaque echogenicity in human carotid arteries atherosclerosis. *Int J Cardiol*. 2016; 223: 917–22. DOI:10.1016/j.ijcard.2016.08.261.
  18. Huang PT, Chen CC, Aronow WS, et al. Assessment of neovascularization within carotid plaques in patients with ischemic stroke. *World J Cardiol*. 2010; 2 (4): 89–97. DOI:10.4330/wjc.v2.i4.89.
  19. Iezzi R, Petrone G, Ferrante A, et al. The role of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in visualizing atherosclerotic carotid plaque vulnerability: which injection protocol? Which scanning technique? *Eur J Radiol*. 2015; 84 (5): 865–71. DOI:10.1016/j.ejrad.2015.01.024.
  20. Li C, He W, Guo D, et al. Quantification of carotid plaque neovascularization using contrast-enhanced ultrasound with histopathologic validation. *Ultrasound Med Biol*. 2014; 40 (8): 1827–33. DOI:10.1016/j.ultrasmedbio.2014.02.010.
  21. Staub D, Patel MB, Tibrewala A, et al. Vasa vasorum and plaque neovascularization on contrast-enhanced carotid ultrasound imaging correlates with cardiovascular disease and past cardiovascular events. *Stroke*. 2010; 41 (1): 41–7. DOI:10.1161/STROKEAHA.109.560342.
  22. Xiong L, Deng Y-B, Zhu Y, Liu Y-N, Bi X-J. Correlation of Carotid Plaque Neovascularization Detected by Using Contrast-enhanced US with Clinical Symptoms. *Radiology*. 2009; 251 (2): 583–9. DOI:10.1148/radiol.2512081829.
  23. Müller HFG, Viacoz A, Kuzmanovic I, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of carotid plaque neo-vascularization: accuracy of visual analysis. *Ultrasound Med Biol*. 2014; 40 (1): 18–24. DOI:10.1016/j.ultrasmedbio.2013.08.012.



24. Shah F, Balan P, Weinberg M, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of atherosclerotic carotid plaque neovascularization: a new surrogate marker of atherosclerosis? *Vasc Med.* 2007; 12 (4): 291–7. DOI:10.1177/1358863X07083363.
25. Huang R, Abdelmoneim SS, Ball CA, et al. Detection of Carotid Atherosclerotic Plaque Neovascularization Using Contrast Enhanced Ultrasound: A Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Accuracy Studies. *J Am Soc Echocardiogr.* 2016; 29 (6): 491–502. DOI:10.1016/j.echo.2016.02.012.
26. Thapar A, Shalhoub J, Averkiou M, Mannaris C, Davies AH, Leen ELS. Dose-Dependent Artifact in the Far Wall of the Carotid Artery at Dynamic Contrast-enhanced US. *Radiology.* 2011; 262 (2): 672–9. DOI:10.1148/radiol.11110968.
27. Leo ND, Venturini L, De Soccio V, et al. Multiparametric ultrasound evaluation with CEUS and shear wave elastography for carotid plaque risk stratification. *J Ultrasound.* 2018; 21 (4): 293–300. DOI:10.1007/s40477-018-0320-7.
28. Meshcheryakova OM, Katrich AN, Vinogradov RA, i dr. Sravnitel'naya ocenka re-zul'tatov kolichestvennogo analiza ul'trazvukovogo issledovaniya s kontrastnym usileniem i patomorfologii v opredelenii stepeni neoangiogeneza v ateroskleroticheskikh blyashkah. *Ul'trazvukovaya i funktsional'naya diagnostika.* 2018; (1): 43–59. Russian.
29. Evdokimenko AN, Anufriev PL, Kulichenkova KN, Gulevskaya TS, Tanashyan MM. Morphometric characteristics of neovascularization of carotid atherosclerotic plaques. *Arkh Patol.* 2018; 80 (2): 24–9. DOI:10.17116/patol201880224-29. Russian.

## ДИНАМИКА КИНЕМАТИЧЕСКОГО ПОРТРЕТА ПОСТИНСУЛЬТНОГО ПАРЕЗА РУКИ НА ФОНЕ РЕАБИЛИТАЦИИ

А. Е. Хижникова ✉, А. С. Клочков, А. М. Котов–Смоленский, Н. А. Супонева, М. А. Пирадов

Научный центр неврологии, Москва, Россия

По данным литературы, только 5–20% пациентов после инсульта могут полностью восстановить двигательную функцию руки. Важны корректная постановка целей и индивидуальный подход, направленный на восстановление функционального статуса пациента. Целью исследования было на основании клинко-биомеханического анализа разработать алгоритм оценки нарушения двигательной функции руки у пациентов после инсульта и определить принципы выбора тактики реабилитации. В исследование были включены 25 пациентов с инсультом полушарной локализации и 10 здоровых добровольцев. Для оценки двигательной функции руки применяли формализованные клинические шкалы (шкала Фугл–Мейера, Эшворта, тест ARAT) и видеоанализ движений. Пациенты были разделены на 2 группы по степени тяжести пареза руки (легкий/умеренный и грубый/выраженный). В обеих группах проводили курс реабилитации, включавший механотерапию, массаж, ЛФК. Выявлено, что у пациентов 1-й группы восстановление двигательной функции в паретичной руке происходит по пути нормализации паттерна движения: нормализация биомеханических параметров, прямо коррелирующая с уменьшением клинической выраженности степени пареза по шкале Фугл–Мейера ( $r = 0,94$ ;  $p = 0,01$ ). У пациентов 2-й группы восстановление двигательной функции в паретичной руке происходит по пути компенсации двигательного дефицита: сохранение патологической синергии по данным биомеханического анализа, обратно коррелирующее с уменьшением клинической выраженности степени пареза ( $r = -0,9$ ;  $p = 0,03$ ). В результате проведенного исследования сформирован алгоритм выбора тактики ведения пациентов, основанный на исходных клинических показателях.

**Ключевые слова:** инсульт, парез в руке, нейрореабилитация, адаптация, двигательное переобучение, биомеханика движений, видеоанализ движений, патологическая синергия

**Финансирование:** работа выполнена в рамках государственного заказа № 0512-2014-0036.

**Информация о вкладе авторов:** А. Е. Хижникова — планирование исследования, анализ литературы, сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка черновика рукописи; А. С. Клочков — планирование исследования, анализ литературы, интерпретация данных, подготовка рукописи; А. М. Котов–Смоленский — проведение тренировок с пациентами, включенными в исследование, осмотр пациентов по клиническим шкалам; Н. А. Супонева — планирование исследования, интерпретация данных, подготовка рукописи; М. А. Пирадов — подготовка рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ НЦН (протокол № 1–5/16 от 27 января 2016 г.). Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Анастасия Евгеньевна Хижникова  
Волоколамское шоссе, д. 80, г. Москва, 125367; nastushkapal@gmail.com

**Статья получена:** 16.08.2019 **Статья принята к печати:** 30.08.2019 **Опубликована онлайн:** 31.08.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.056

## DYNAMICS OF POST-STROKE HAND PARESIS KINEMATIC PATTERN DURING REHABILITATION

Khizhnikova AE ✉, Klochkov AS, Kotov–Smolenskiy AM, Suponeva NA, Piradov MA

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

According to the literature data, only 5–20% of post-stroke patients are able to restore the hand motor function completely. Correct goal setting and individual approach to the patient's functional recovery are important. Our study aimed to develop an algorithm of impaired hand motor functioning assessment for post-stroke patients and to determine the principles of the rehabilitation tactics choosing based on the biomechanical analysis. Twenty five patients with hemispheric stroke and 10 healthy volunteers participated in the study. Formal clinical observation scales (Fugl–Meyer Assessment, Ashworth Scale, ARAT) and video motion analysis were used for evaluation of the hand motor function. Patients were divided into 2 groups according to the hand paresis severity (mild/moderate and pronounced/severe). Rehabilitation was carried out in both groups, including mechanotherapy, massage and physical therapy. It was revealed that in the 1st group of patients the motor function recovery in the paretic hand was due to movement performance recovery: biomechanical parameters restoration directly correlated with a decrease in the paresis degree according to the Fugl–Meyer Assessment Scale ( $r = 0.94$ ;  $p = 0.01$ ). In the 2nd group of patients, the motor function recovery in the paretic hand was due to motor deficit compensation: according to biomechanical analysis, the pathological motor synergies inversely correlated with a decrease in the paresis degree ( $r = -0.9$ ;  $p = 0.03$ ). As a result of the study, an algorithm for selecting the patient management tactics based on the baseline clinical indicators was developed.

**Keywords:** stroke, hand paresis, neurorehabilitation, adaptation, motor relearning, movement biomechanics, motion capture, abnormal synergy

**Funding:** the study was performed as a part of the public contract № 0512-2014-0036.

**Author contribution:** Khizhnikova AE — research planning, literature analysis, data acquisition, analysis and interpretation, manuscript draft writing; Klochkov AS — research planning, literature analysis, data interpretation, manuscript writing; Kotov–Smolenskiy AM — training of surveyed patients, patients examination using clinical scales; Suponeva NA — research planning, data interpretation, manuscript writing; Piradov MA — manuscript writing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Research Center of Neurology (protocol № 5/16 dated January 27, 2016). All enrolled patients signed informed consent to participation in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Anastasia E. Khizhnikova  
Volokolamskoye Shosse 80, Moscow, 125367; nastushkapal@gmail.com

**Received:** 16.08.2019 **Accepted:** 30.08.2019 **Published online:** 31.08.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.056

По данным ряда авторов, в остром периоде инсульта парез руки можно встретить в 48–77% случаев [1, 2]. В то же время только 5–20% пациентов могут полностью восстановить двигательную функцию паретичной руки к концу раннего восстановительного периода [3, 4].

Восстановление двигательной функции верхней конечности проходит за шесть последовательных стадий (от вялого пареза до возможности совершать сложные координированные движения), при этом улучшение может завершиться на любом из этапов и пациент останется с

частично или полностью утраченными возможностями самообслуживания [5]. В связи с этим важным условием эффективной двигательной реабилитации является определение тактики реабилитации пациента для достижения максимального функционального восстановления в зависимости от текущего его этапа.

Известно, что у пациентов, перенесших инсульт, имеющих выраженный парез и повышение мышечного тонуса, физиологический паттерн движений становится невозможным. Вследствие этого возникают предпосылки для развития новых двигательных синергий, являющихся по своей сути компенсаторным механизмом. В результате организм использует для совершения двигательного акта сохранившиеся двигательные функции конечности либо активные движения в смежных суставах и функционально связанных кинематических цепях. Использование в составе компенсаторных синергий движений с более низким уровнем регуляции приводит к снижению степени приспособляемости к изменяющимся условиям окружающей среды. Впоследствии компенсаторные синергии приобретают патологический характер [6], что ведет к снижению функциональных возможностей пациента и замедлению темпов дальнейшей реабилитации.

Тем не менее стоит отметить, что, по данным некоторых авторов, механизмы компенсации необходимы для пациентов с грубым парезом и их наличие важно для успешного формирования движений у пациентов, перенесших инсульт [7]. В ходе процесса восстановления двигательные синергии проявляются более комплексно и становятся тесно связанными со спастичностью и содружественными реакциями. В настоящее время принято считать, что для лучшего функционального двигательного восстановления необходимо проводить тренировку в рамках существующего патологического стереотипа с последующим расширением зоны активных движений [8]. Благодаря этому на фоне двигательных тренировок, как правило, происходит перестройка патологической синергии за счет увеличения объема «выгодных» компонентов движения [9].

Важны корректная постановка целей и индивидуальный подход в разработке реабилитационной программы, направленной на восстановление прежде всего функционального статуса пациента. Видеоанализ движений паретичной руки и плечевого пояса с подробной оценкой межсуставных взаимоотношений и кинематических характеристик на фоне курса реабилитации может оказать неоценимую помощь в ретроспективной оценке успешности восстановительного процесса. Целью исследования было на основании клинического и биомеханического анализов разработать принципы выбора тактики реабилитации двигательной функции руки у пациентов, перенесших нарушение мозгового кровообращения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на базе отделения нейрореабилитации и физиотерапии ФГБНУ «Научный центр неврологии» (2017–2018 гг.). Критерии включения пациентов в исследование: пациенты мужского и женского пола в возрасте 18–80 лет; наличие подтвержденного нарушения мозгового кровообращения по ишемическому или геморрагическому типу; единичный очаг поражения полушарной локализации давностью от 3-х месяцев до 2-х лет; наличие постинсультного пареза в руке от 2 до 4 баллов по Британской шкале оценки мышечной силы

[10]. Критерии исключения: степень пареза в руке меньше 2 баллов по Британской шкале оценки мышечной силы; грубое нарушение глубокой чувствительности; неглект-синдром; повышение мышечного тонуса по шкале Эшворта больше 2 баллов (0 баллов соответствуют нормальному мышечному тону); грубое нарушение зрения, не позволяющее различать изображение на экране компьютера; выраженные когнитивные нарушения, затрудняющие выполнение инструкций; грубая сенсорная или моторная афазия; леворукость по данным Эдинбургского опросника мануальной асимметрии [11]. В исследование было включено 25 пациентов, перенесших нарушение мозгового кровообращения полушарной локализации. Среди них было 17 мужчин и 8 женщин в возрасте 30–80 лет (медиана возраста — 55 [45; 61]). Давность инсульта составила от 3 до 23 месяцев (медиана давности инсульта — 7 месяцев [4; 12]). При этом 9 больных (36%) наблюдали в раннем восстановительном периоде, 9 больных (36%) — в позднем восстановительном периоде, 7 больных (28%) — в резидуальном. В исследование не включали пациентов с тяжелой степенью спастичности, грубыми речевыми и когнитивными нарушениями, ограничивающими возможность коммуникации и следования указаниям инструктора-методиста по лечебной гимнастике.

Для определения нормального кинематического портрета движения руки было отобрано 10 здоровых добровольцев в возрасте 24–42 года (4 женщины и 6 мужчин) с доминантной правой рукой без патологий опорно-двигательной и нервной систем. У каждого испытуемого был проведен анализ движений как в доминантной (правой), так и в недоминантной (левой) руке.

Для клинической оценки двигательного дефицита, выраженности патологических синергий, рефлекторной активности, поверхностной и глубокой чувствительности, координации, объема пассивных движений и болевых ощущений при движениях в пораженных конечностях использовали шкалу Фугл–Мейера [12]: раздел шкалы для оценки функции руки (общий максимум баллов по данному разделу в норме составляет 126). Для оценки спастичности в паретичной руке применяли шкалу Эшворта [13]. Для оценки мелкой моторики кисти и функциональных движений использовали тест ARAT [14].

Для трехмерного анализа движений пациентов использовали аппаратно-программный комплекс «Видеоанализ-3D Биософт» (Биософт; Россия). Так как движения руки очень разнообразны и переменны, для оценки биомеханических параметров была выбрана наименее переменная парадигма: «достижение удаленно расположенного объекта» (ричинг). Испытуемые располагались за столом, сидя на стуле без спинки с подлокотниками для обеих рук. Руки располагали на подлокотниках ладонями вниз (кисти лежали на столе). На расстоянии вытянутой руки индивидуально для каждого испытуемого на столе устанавливали стакан с утяжелителем весом 10 г. Испытуемому предлагали дотянуться до стакана, взять его, поднести ко рту, имитируя процесс питья, затем поставить стакан на место и вернуть руку в исходную позицию. При невозможности захватить стакан (грубый парез в кисти) испытуемому предлагали совершить попытку захвата. Для обеспечения максимально автоматизированного движения испытуемым сообщали, что основная цель исследования заключалась в изучении движения, имитирующего питье. Таким образом, движение ричинг выполняли с минимальным акцентом на внимание, что позволяло добиться получения

автоматизированных действий. Измеряли только первую часть движения — доставку удаленно расположенного объекта.

Для изучения внутрисуставных и межсуставных угловых синергий в сагиттальной и фронтальной плоскостях были введены следующие коэффициенты (К) синергий:  $K_1$  — отношение объема сгибания в плечевом суставе (ПС) к объему отведения в ПС;  $K_2$  — отношение объема разгибания в локтевом суставе (ЛС) к объему сгибания в ПС;  $K_3$  — отношение объема разгибания в ЛС к объему отведения в ПС.

В рамках курса реабилитации у пациентов проводили тренировки функционального навыка паретичной руки с применением механотерапевтического экзоскелетного комплекса с разгрузкой веса и обратной связью Armeo Spring (Hocoma; Швейцария), тренировки бимануальных и координационных движений с инструктором-методистом лечебной гимнастики, массаж паретичной руки. Во всех случаях курс реабилитации был успешным.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью критериев Манна-Уитни (при сравнении независимых выборок), Уилкоксона (при сравнении зависимых выборок), коэффициента корреляции Спирмена, на персональном компьютере с применением пакета прикладных программ Statsoft Statistica v. 7.0 (StatSoft; США). Данные представляли в виде медианы и 25- и 75%-х квартилей медианы. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Клиническая оценка

При проведении сравнительного анализа данных по шкале Фугл-Мейера у всех пациентов после курса реабилитации наблюдали статистически значимое увеличение активных движений в плече, предплечье, запястье и кисти. Было отмечено также достоверное увеличение объема пассивных движений в локтевом и лучезапястном суставах. Важно заметить, что, согласно шкале Фугл-Мейера, значимо уменьшалась выраженность патологической сгибательной синергии (чем больше балл по шкале Фугл-Мейера, оценивающий выраженность синергии, тем меньше степень ее выраженности) (табл. 1).

По результатам оценки по шкале Эшворта при проведении статистического анализа было выявлено, что после курса реабилитации значимо снизилась степень

спастичности в мышцах сгибателях локтевого сустава ( $p = 0,00008$ ), мышцах сгибателях запястья ( $p = 0,00098$ ) и наружных сгибателях пальцев ( $p = 0,0022$ ). Снижение спастичности в исследуемых группах мышц наблюдали у пациентов как с незначительным и легким (1; 1+), так и с более выраженным повышением мышечного тонуса (2).

При анализе клинических данных по шкале Фугл-Мейера нами была выявлена тесная связь степени выраженности патологической сгибательной синергии в руке и степени общего двигательного дефицита ( $r = 0,81$ ;  $p = 0,000000$ ). Согласно клинической оценке по шкале Фугл-Мейера, нами были выделены больные с грубым парезом, двигательный дефицит которых составил менее 50% от максимального балла активных движений (менее 33 баллов), выраженным — 50–70% (34–46 баллов), умеренным — 71–89% (47–56 баллов) и легким парезом — 90–99% (57–65 баллов). Для дальнейшего анализа пациенты были разделены на 2 группы: группа 1 — пациенты с легким/умеренным парезом, группа 2 — пациенты с грубым/выраженным парезом.

При сравнительном анализе по отдельным подразделам шкалы Фугл-Мейера оказалось, что достоверное улучшение двигательной функции руки наступало как в проксимальных, так и в дистальных отделах руки в обеих подгруппах (табл. 2).

### Видеоанализ движений паретичной руки при выполнении ричинг-теста

При анализе временных характеристик ричинг-теста было выявлено, что пациентам обеих групп на выполнение целевого движения было необходимо достоверно больше времени, чем здоровому человеку. В случае с грубым/выраженным парезом на выполнение движения достижения удаленно расположенного объекта требовалось статистически достоверно больше времени, чем в норме ( $p = 0,001$ ). Разница во времени между группой здоровых добровольцев и группой с легким/умеренным парезом была менее значительна и составила всего 0,55 с (рис. 1).

При анализе временных характеристик ричинг-теста после курса реабилитации было показано, что у пациентов первой группы (с легким/умеренным парезом руки) происходит статистически значимое уменьшение времени, затрачиваемого на достижение объекта ( $p = 0,04$ ). У пациентов второй группы (грубый/выраженный парез) после курса реабилитации время, затрачиваемое на выполнение

**Таблица 1.** Медиана показателей (Me [25%; 75%]) двигательных нарушений в руке по подразделам шкалы Фугл-Мейера

Раздел шкалы	Группа (n = 25)	
	До лечения	После лечения
Общий балл	103 [91; 109]	109 [99; 120] $p = 0,000025$
Движения плеча и предплечья	29 [24; 34]	32 [24; 38] $p = 0,000821$
Движения запястья и кисти	18 [13; 21]	20 [9; 23,5] $p = 0,000168$
Синергии	9 [6; 10]	9,5 [5; 11] $p = 0,000049$
Объем пассивных движений	21 [20; 22]	23 [22; 24] $p = 0,000327$



Таблица 2. Медиана показателей (Me [25%; 75%]) двигательных нарушений в руке по шкале Фугл-Мейера у больных до и после реабилитации

Движения плеча и предплечья, баллы ( $n = 25$ )		
	Легкий/умеренный парез ( $n = 13$ )	Грубый/выраженный парез ( $n = 12$ )
До лечения	34 [32; 37]	24 [21,5; 27]
После лечения	38 [34; 41]	30,5 [25,5; 33,5]
$p$ -level	$p = 0,041$	$p = 0,0068$
Движения запястья и кисти, баллы ( $n = 25$ )		
	Легкий/умеренный парез ( $n = 13$ )	Грубый/выраженный парез ( $n = 12$ )
До лечения	21 [19; 21]	12 [8; 14,5]
После лечения	23 [22; 24]	14 [10; 19,5]
$p$ -level	$p = 0,0044$	$p = 0,012$

этого теста, наоборот, достоверно увеличилось ( $p = 0,043$ ) и стало превышать соответствующий показатель в норме более чем в 2 раза.

При анализе результатов биомеханического исследования было выявлено, что у больных с легким/умеренным парезом статистически значимо была уменьшена максимальная угловая амплитуда сгибания в плечевом суставе и увеличена максимальная угловая амплитуда отведения в плечевом суставе при выполнении ричинг-теста (рис. 2А).

Помимо уменьшения максимального угла движения в некоторых суставах у больных с легким/умеренным парезом увеличивалось время достижения максимумов угловой амплитуды при всех движениях по сравнению с нормой (рис. 3А, В).

Кинематический портрет в группе больных с грубым/выраженным парезом был другим: при выполнении движения максимальный угол отведения в плечевом суставе был больше, чем в норме (рис. 2Б), при этом значение максимального угла разгибания в локтевом суставе было значимо ниже нормы (рис. 3Б, В).

Помимо уменьшения максимального угла в некоторых суставах у больных с грубым/выраженным парезом значимо увеличивалось время достижения максимумов угловой амплитуды при всех движениях по сравнению с нормой. У пациентов этой группы обращает на себя внимание изменение времени достижения пиков амплитуд в суставах при движении. Если в группе с легким/умеренным парезом порядок достижения максимальных амплитуд в суставах оставался прежним, то в группе с грубым/выраженным парезом он был иным. Так, отведение плечевого сустава, достигавшее своего пика первым из всех участвующих суставов как в норме, так и при легком/умеренном парезе, у пациентов с грубым/выраженным парезом появлялось только в середине движения, после разгибания в лучезапястном суставе.

При сравнении параметров максимума угловых амплитуд в суставах у пациентов первой группы до и после реабилитации статистически значимых различий в этих показателях обнаружено не было. В то же время при анализе изменения объема движений в суставах после тренировки были получены достоверные изменения биомеханических показателей в плечевом суставе: увеличение объема сгибания ( $p = 0,04$ ) и уменьшение объема отведения ( $p = 0,01$ ).

Анализ изменения скоростных параметров движения показал достоверное увеличение угловой скорости сгибания в плечевом суставе ( $p = 0,01$ ), разгибания в локтевом суставе ( $p = 0,02$ ), а также уменьшение угловой скорости отведения в плечевом суставе ( $p = 0,02$ ). При изучении коэффициентов синергий, отражающих межсуставные взаимодействия у пациентов первой группы достоверные различия после курса реабилитации были выявлены только по коэффициенту  $K_2$  ( $p = 0,04$ ), отражающему взаимодействие между сгибанием в плечевом суставе и разгибанием в локтевом суставе во время выполнения ричинг-теста.

При сравнении показателей максимума угловых амплитуд в суставах у пациентов второй группы (грубый/выраженный парез) до и после реабилитации было выявлено значительное уменьшение максимального угла разгибания локтевого сустава ( $p = 0,01$ ). Достоверных изменений в других суставах не было отмечено.

При проведении анализа объема движений в суставах во второй группе пациентов наблюдали изменения, противоположные показателям, полученным у больных первой группы. На фоне проведения реабилитационных мероприятий объем сгибания в плечевом суставе достоверно уменьшался ( $p = 0,02$ ), при этом также наблюдалось достоверное увеличение объема отведения в плечевом суставе ( $p = 0,04$ ). В локтевом суставе достоверных различий до и после реабилитации обнаружено не было. Так же стоит отметить, что несмотря

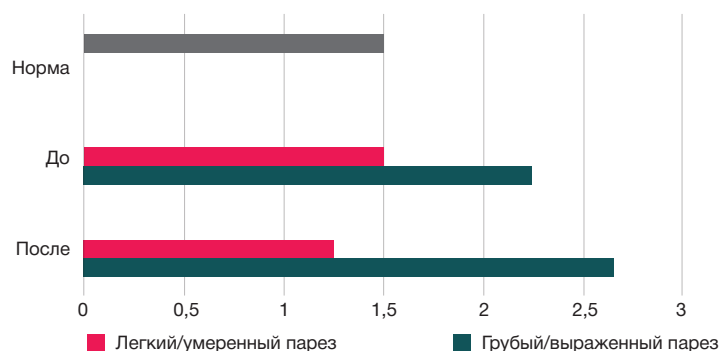


Рис. 1. Время (с) выполнения движения ричинг-теста у больных с разной степенью пареза в руке

на уменьшение объема сгибания в плечевом суставе, статистически значимых отличий от нормальных значений данного показателя обнаружено не было.

Достоверные отличия объемов движений от нормального двигательного стереотипа сохранялись по остальным показателям: объему отведения в плечевом суставе ( $p = 0,04$ ), объему разгибания в локтевом суставе ( $p = 0,007$ ), объему разгибания в лучезапястном суставе ( $p = 0,02$ ). Кроме того, были выявлены противоположные изменения в скоростных характеристиках движения у пациентов второй группы по отношению к изменениям у пациентов первой группы. Так, после курса реабилитации отмечали достоверное увеличение угловой скорости отведения в плечевом суставе ( $p = 0,02$ ), в то же время в локтевом суставе произошло значимое уменьшение угловой скорости ( $p = 0,02$ ) при одновременном уменьшении объема разгибания и максимума угловой амплитуды

в локтевом суставе. При изучении коэффициентов синергий, отражающих межсуставные взаимодействия, у пациентов второй группы достоверные различия после курса реабилитации, так же как у больных первой группы, отмечали только по коэффициенту  $K_2$ , который достоверно уменьшался ( $p = 0,04$ ) после курса тренировки.

#### Анализ биомеханики движений плечевого пояса при выполнении ричинг-теста

Несмотря на то что полученные результаты показали отсутствие эффекта тренировок на выраженность патологической синергии у больных с грубым/выраженным парезом в руке, при клинической оценке наблюдали улучшение функциональных возможностей в паретичной руке, что было выражено в достоверном улучшении мелкой моторики по шкале ARAT. В одном

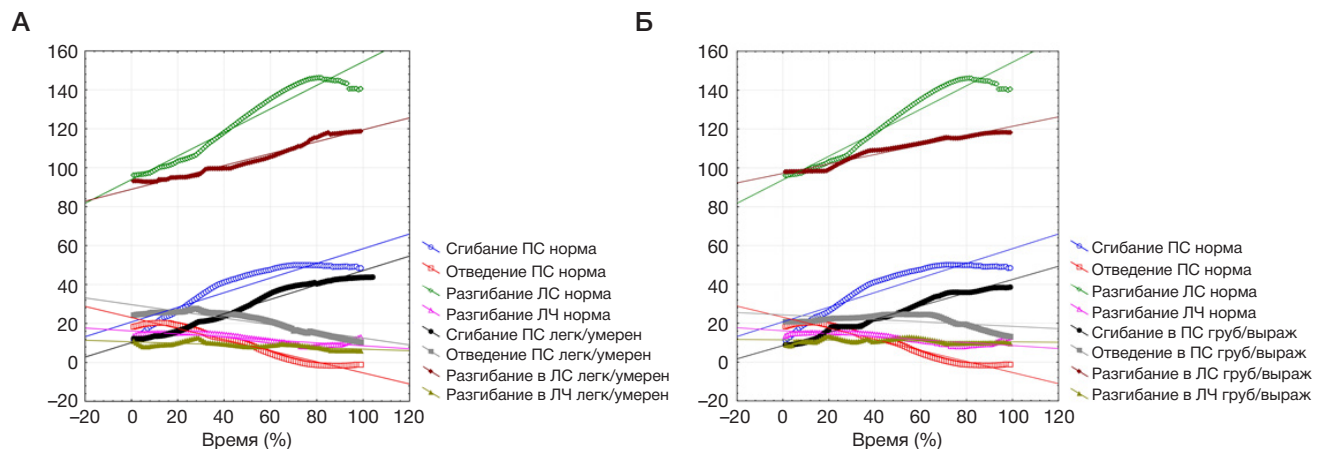


Рис. 2. Межсуставные взаимодействия в паретичной руке у пациентов с легким/умеренным (А) и грубым/выраженным (Б) парезом

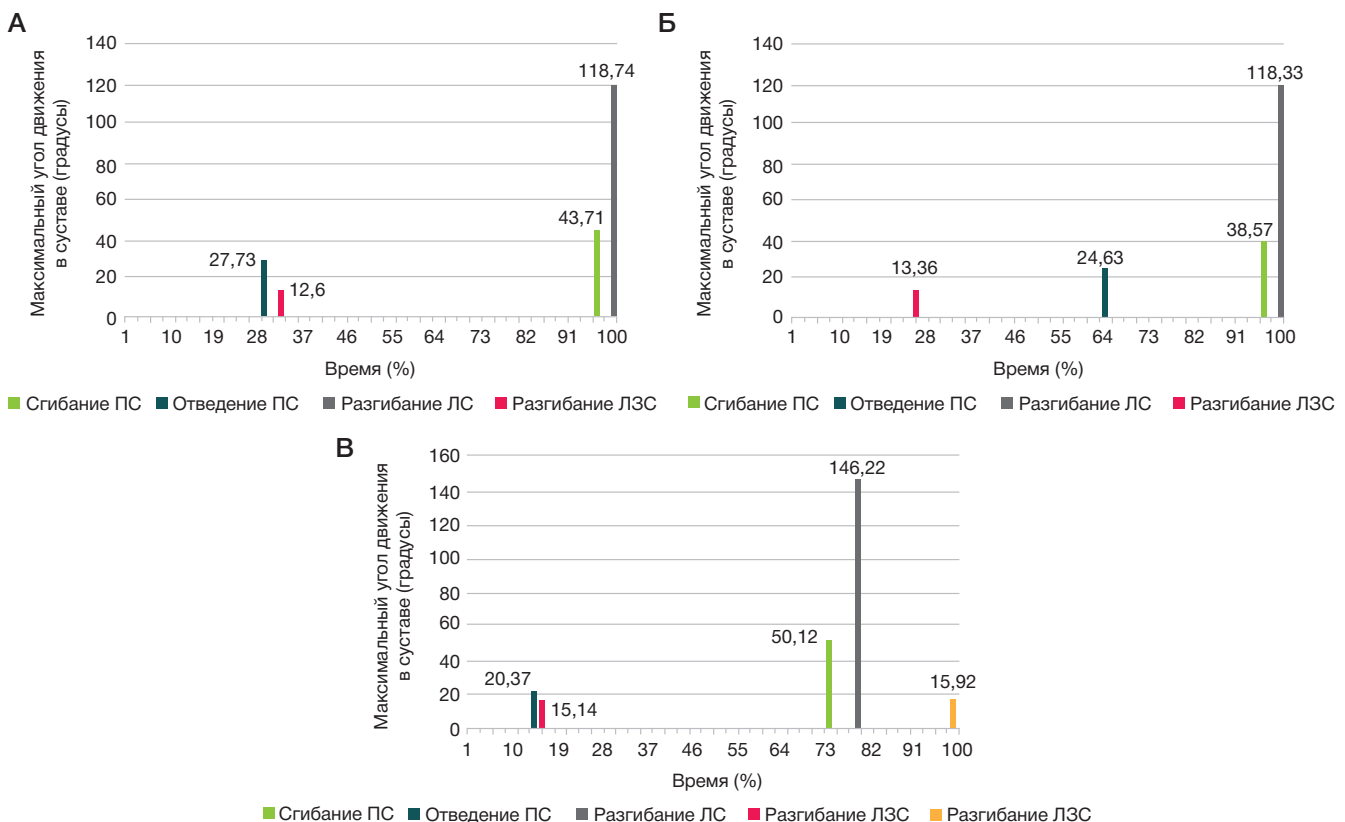


Рис. 3. Максимум угловой амплитуды движения в разных суставах при выполнении ричинг-теста в норме (А) и у больных с легким/умеренным парезом (Б) по сравнению с нормой (В)

из исследований у пациентов с умеренным парезом с улучшением функциональности по клиническим шкалам наблюдали уменьшение смещения корпуса и плечевого пояса по данным видеоанализа движений [15, 16]. Для подтверждения гипотезы о наличии компенсаторного движения плечевого пояса у пациентов с грубым/выраженным парезом в руке был проведен дополнительный анализ движений во время выполнения ричинг-теста. Для этой цели оценивали смещение двух маркеров, располагавшихся на акромионе здорового и паретичного плечей во фронтальной плоскости.

Полученные результаты показали смещение плечевого пояса у пациентов с грубым/выраженным парезом в сторону объекта при выполнении ричинг-теста, как до тренировок (23 [19,8; 57,4] — здоровое плечо; 169 [88,0; 178,0] — паретичное плечо), так и после тренировок (66 [49,0; 81,0] — здоровое плечо; 215 [162,0; 229,0] — паретичное плечо), с достоверно большим преобладанием смещения паретичного плеча. Помимо этого, проведенный анализ выявил достоверное ( $p = 0,04$ ) увеличение смещения плечевого пояса вперед при выполнении ричинг-движения на фоне курса реабилитации.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

После курса реабилитационного лечения нами были получены данные о том, что обе группы пациентов не только различаются в значительной степени по кинематическому портрету, но и имеют разные пути двигательного восстановления.

Так, у пациентов с легким/умеренным парезом восстановление двигательной функции в паретичной руке

происходит по пути нормализации паттерна движения, о чем свидетельствует увеличение коэффициента  $K_2$ , отражающего межсуставное взаимодействие в плечевом и локтевом суставах, что имеет прямую корреляцию с уменьшением клинической выраженности степени пареза по шкале Фугл-Мейера ( $r = 0,94$ ;  $p = 0,01$ ). У пациентов с грубым/выраженным парезом в руке восстановление двигательной функции в паретичной руке происходит по пути компенсации двигательного дефицита, о чем свидетельствует снижение коэффициента  $K_2$ , что имеет обратную корреляцию с уменьшением клинической выраженности степени пареза по шкале Фугл-Мейера ( $r = -0,9$ ;  $p = 0,03$ ), т. е. у данных пациентов происходит улучшение функциональных движений в руке при сохранении патологического паттерна движения. Дальнейший анализ показал, что у пациентов с грубым/выраженным парезом после курса реабилитации достоверно увеличивалось смещение плечевого пояса вперед при выполнении ричинг-движения. При проведении корреляционного анализа была обнаружена отрицательная взаимосвязь смещения маркера на паретичном плече со значением  $K_2$  ( $r = -0,9$ ;  $p = 0,03$ ). Взаимосвязь движений туловища и паретичной конечности подчеркивают и результаты ряда научных исследований [17]. Эти данные свидетельствуют о наличии у пациентов с грубым/выраженным парезом компенсаторного механизма и объясняют снижение этого коэффициента после проведения реабилитации, так как при большем смещении туловища объемы движений и максимальные углы в суставах становились меньше. Можно предположить, что при грубом/выраженном парезе восстановление двигательных навыков идет по пути компенсации, поэтому возвращаясь к нормальному

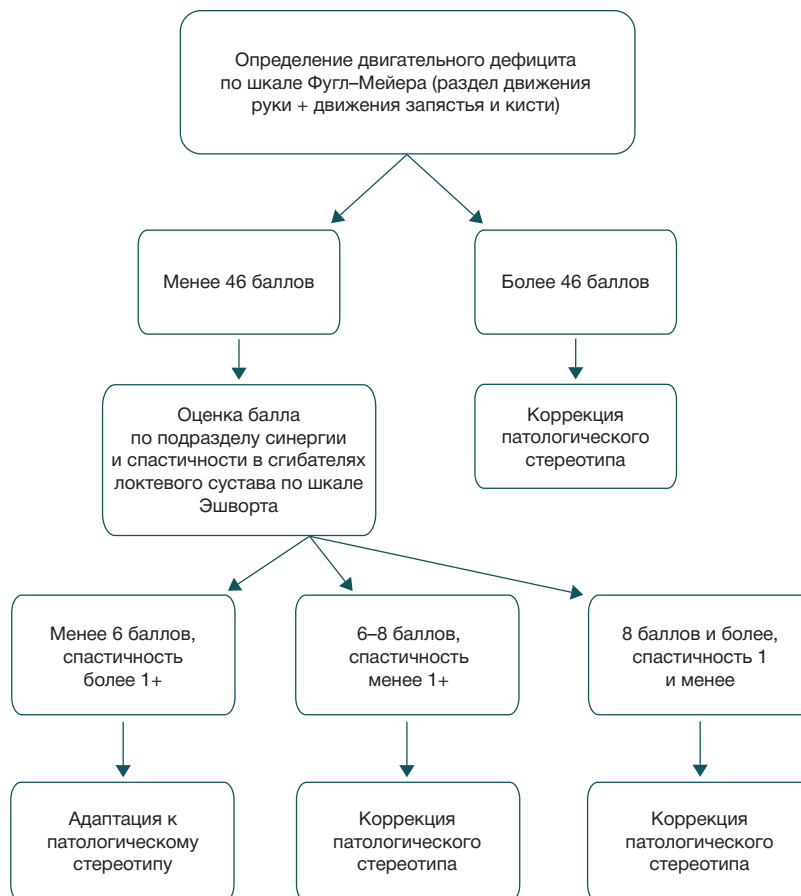


Рис. 4. Алгоритм выбора тактики реабилитационных мероприятий у больных с постинсультным парезом руки

паттерну движений у пациентов со сформировавшейся в полной степени патологической синергией в руке невозможно. По нашим данным, тренировка, проводимая специалистом по реабилитации, не во всех случаях должна быть направлена на преодоление патологических синергий, поскольку на адаптацию и обучение пациентов с грубым/выраженным парезом целесообразно использовать максимально эффективно компенсаторные механизмы. Такой вывод нашел подтверждение и при анализе данных клинического осмотра, так как после проведенного курса реабилитации было отмечено достоверное улучшение функциональности паретичной руки в обеих группах пациентов, в частности навыков, связанных с мелкой моторикой. Мы предполагаем, и это сопоставимо с данными многих мировых исследований [18–21], что этот эффект может быть связан с отсутствием ограничения степеней свободы в паретичной конечности во время тренировки, так как пациенты обучались действовать в рамках своего стереотипа и преодолевать его при необходимости произвольно.

На основании полученных клинко-биомеханических данных в группах пациентов с разной степенью спастичности и выраженностью пареза в руке был разработан алгоритм выбора тактики реабилитационных мероприятий у больных с постинсультным парезом руки (рис. 4). При этом оценку до начала курса реабилитации и разработки реабилитационной стратегии необходимо проводить по подразделу шкалы Фугл-Мейера для верхней конечности. Стоит отметить, что оценка по шкале Эшворта также необходима и обязательно должна быть проведена в трех мышечных группах: сгибателях локтевого

и лучезапястного суставов и сгибателях пальцев. Степень спастичности, влияющая на выбор тактики ведения пациента, составляет 1+ в двух и более мышечных группах.

## ВЫВОДЫ

Проведенное детальное клинко-биомеханическое исследование динамики изменений кинематического портрета одного из самых функционально значимых для человека движений (ричинг-теста) на фоне реабилитационных мероприятий показало, что определяющее значение для наиболее эффективного и успешного восстановления функции паретичной руки имеют исходная тяжесть поражения и степень спастичности. Именно они определяют формирование патологических двигательных синергий при постинсультном парезе руки и обуславливают включение различных механизмов трансформации двигательного стереотипа в процессе восстановления. Полученные данные позволили сформировать алгоритм выбора тактики реабилитационных мероприятий, основанный прежде всего на клинических показателях: у больных с легким/умеренным парезом целесообразно проводить тренировку в рамках физиологического паттерна движений с подавлением компенсаторных механизмов, направленную на коррекцию патологического стереотипа; у больных с грубым/выраженным парезом в руке, напротив, необходимы тренировки с поощрением механизмов компенсации и повышением функциональности паретичной руки в рамках сформировавшегося патологического стереотипа.

## Литература

- Lawrence ES, Coshall C, Dundas R, et al. Estimates of the prevalence of acute stroke impairments and disability in a multiethnic population. *J Stroke*. 2001; (32): 1279–84.
- Persson HC, Parziali M, Danielsson A, Sunnerhagen KS. Outcome and upper extremity function within 72 hours after first occasion of stroke in an unselected population at a stroke unit. A part of the SALGOT study. *J BMC Neurol*. 2012; (12): 162.
- Langhorne P, Coupar F, Pollock A. Motor recovery after stroke: a systematic review. *Lancet Neurol*. 2009; 8 (8): 741–54.
- Veerbeek JM, Kwakkel G, van Wegen EE, Ket JC, Heymans MW. Early prediction of outcome of activities of daily living after stroke: a systematic review. *Stroke*. 2011; 42 (5): 1482–8.
- Brunnstrom S. *Movement Therapy in Hemiplegia: A Neurophysiological Approach. Facts and Comparisons*. New York: Harper and Row, 1970.
- Santello M, Lang CE. Are movement disorders and sensorimotor injuries pathologic synergies? When normal multi-joint movement synergies become pathologic. *J Front Hum Neurosci*. 2015; (8): 1050.
- van Kordelaar J, van Wegen EE, Kwakkel G. Unraveling the interaction between pathological upper limb synergies and compensatory trunk movements during reach-to-grasp after stroke: a cross-sectional study. *J Exp Brain Res*. 2012; 221 (3): 251–62.
- Van Vliet PM, Sheridan MR. Coordination between reaching and grasping in patients with hemiparesis and healthy subjects. *J Arch Phys Med Rehabil*. 2007; (88): 1325–31.
- Hogan L, Dipietro HI, Krebs SE, et al. Changing Motor Synergies in Chronic Stroke. *J Neurophysiol*. 2007; (98): 757–68.
- Compston A. Aids to the investigation of peripheral nerve injuries. Medical Research Council: Nerve Injuries Research Committee. His Majesty's Stationery Office: 1942; pp. 48 (iii) and 74 figures and 7 diagrams; with aids to the examination of the peripheral nervous system. By Michael O'Brien for the Guarantors of Brain. Saunders Elsevier. *Brain*. 2010; 133 (10): 2838–44.
- Oldfield RC. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia*. 1971; (9): 97–113.
- Sanford J, Moreland J, Swanson LR, Stratford PW. Reliability of the Fugl-Meyer assessment for testing motor performance in patients following stroke. *J Gowland C Phys Ther*. 1993; 73 (7): 447–54.
- Bohannon RW, Smith MB. Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. *J Phys Ther*. 1987; 67 (2): 206–7.
- Doussoulin SA, Rivas SR, Campos SV. Validation of «Action Research Arm Test» (ARAT) in Chilean patients with a paretic upper limb after a stroke. *Rev Med Chil*. 2012; 140 (1): 59–65.
- Alt Murphy M, Willén C, Sunnerhagen KS. Movement kinematics during a drinking task are associated with the activity capacity level after stroke. *J Neurorehabil Neural Repair*. 2012; 26 (9): 1106–15.
- Valdés BA, Glegg SMN, Van der Loos HFM. Trunk Compensation During Bimanual Reaching at Different Heights by Healthy and Hemiparetic Adults. *J Mot Behav*. 2017; 49 (5): 580–92.
- van Kordelaar J, van Wegen EE, Kwakkel G. Unraveling the interaction between pathological upper limb synergies and compensatory trunk movements during reach-to-grasp after stroke: a cross-sectional study. *J Exp Brain Res*. 2012; 221 (3): 251–62.
- Roh J, Rymer WZ, Perreault EJ, et al. Saturated muscle activation contributes to compensatory reaching strategies after stroke. *J Neurophysiol*. 2013; 109 (3): 768–81.
- Basteris A, Nijenhuis SM, Stienen AH, et al. Training modalities in robot-mediated upper limb rehabilitation in stroke: a framework



for classification based on a systematic review. *J Neuroeng Rehabil.* 2014; 10 (11): 111.

20. Daunoraviciene K, Adomaviciene A, Grigonyte A, Griškevičius J, Juocevicius A. Effects of robot-assisted training on upper limb functional recovery during the rehabilitation of poststroke patients. *J Technol Health Care.* 2018; 26 (2): 533–42.

## References

1. Lawrence ES, Coshall C, Dundas R, et al. Estimates of the prevalence of acute stroke impairments and disability in a multiethnic population. *J Stroke.* 2001; (32): 1279–84.
2. Persson HC, Parziali M, Danielsson A, Sunnerhagen KS. Outcome and upper extremity function within 72 hours after first occasion of stroke in an unselected population at a stroke unit. A part of the SALGOT study. *J BMC Neurol.* 2012; (12): 162.
3. Langhorne P, Coupar F, Pollock A. Motor recovery after stroke: a systematic review. *Lancet Neurol.* 2009; 8 (8): 741–54.
4. Veerbeek JM, Kwakkel G, van Wegen EE, Ket JC, Heymans MW. Early prediction of outcome of activities of daily living after stroke: a systematic review. *Stroke.* 2011; 42 (5): 1482–8.
5. Brunnstrom S. *Movement Therapy in Hemiplegia: A Neurophysiological Approach. Facts and Comparisons.* NewYork: Harper and Row, 1970.
6. Santello M, Lang CE. Are movement disorders and sensorimotor injuries pathologic synergies? When normal multi-joint movement synergies become pathologic. *J Front Hum Neurosci.* 2015; (8): 1050.
7. van Kordelaar J, van Wegen EE, Kwakkel G. Unraveling the interaction between pathological upper limb synergies and compensatory trunk movements during reach-to-grasp after stroke: a cross-sectional study. *J Exp Brain Res.* 2012; 221 (3): 251–62.
8. Van Vliet PM, Sheridan MR. Coordination between reaching and grasping in patients with hemiparesis and healthy subjects. *J Arch Phys Med Rehabil.* 2007; (88): 1325–31.
9. Hogan L, Dipietro HI, Krebs SE, et al. Changing Motor Synergies in Chronic Stroke. *J Neurophysiol.* 2007; (98): 757–68.
10. Compston A. *Aids to the investigation of peripheral nerve injuries.* Medical Research Council: Nerve Injuries Research Committee. His Majesty's Stationery Office: 1942; pp. 48 (iii) and 74 figures and 7 diagrams; with aids to the examination of the peripheral nervous system. By Michael O'Brien for the Guarantors of Brain. Saunders Elsevier. *Brain.* 2010; 133 (10): 2838–44.
11. Oldfield RC. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia.* 1971; (9): 97–113.
12. Sanford J, Moreland J, Swanson LR, Stratford PW. Reliability of the Fugl-Meyer assessment for testing motor performance in patients following stroke. *J Gowland C Phys Ther.* 1993; 73 (7): 447–54.
13. Bohannon RW, Smith MB. Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. *J Phys Ther.* 1987; 67 (2): 206–7.
14. Doussoulain SA, Rivas SR, Campos SV. Validation of «Action Research Arm Test» (ARAT) in Chilean patients with a paretic upper limb after a stroke. *Rev Med Chil.* 2012; 140 (1): 59–65.
15. Alt Murphy M, Willén C, Sunnerhagen KS. Movement kinematics during a drinking task are associated with the activity capacity level after stroke. *J Neurorehabil Neural Repair.* 2012; 26 (9): 1106–15.
16. Valdés BA, Glegg SMN, Van der Loos HFM. Trunk Compensation During Bimanual Reaching at Different Heights by Healthy and Hemiparetic Adults. *J Mot Behav.* 2017; 49 (5): 580–92.
17. van Kordelaar J, van Wegen EE, Kwakkel G. Unraveling the interaction between pathological upper limb synergies and compensatory trunk movements during reach-to-grasp after stroke: a cross-sectional study. *J Exp Brain Res.* 2012; 221 (3): 251–62.
18. Roh J, Rymer WZ, Perreault EJ, et al. Saturated muscle activation contributes to compensatory reaching strategies after stroke. *J Neurophysiol.* 2013; 109 (3): 768–81.
19. Basteris A, Nijenhuis SM, Stienen AH, et al. Training modalities in robot-mediated upper limb rehabilitation in stroke: a framework for classification based on a systematic review. *J Neuroeng Rehabil.* 2014; 10 (11): 111.
20. Daunoraviciene K, Adomaviciene A, Grigonyte A, Griškevičius J, Juocevicius A. Effects of robot-assisted training on upper limb functional recovery during the rehabilitation of poststroke patients. *J Technol Health Care.* 2018; 26 (2): 533–42.
21. Ustinova KI, Chernikova LA, Khizhnikova AE, Poydasheva AG, Suponeva NA, Piradov MA. Theoretical basis for classical methods of motor rehabilitation in neurology. *Annals of clinical and experimental neurology.* 2018; 12 (3): 54–60.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРЕНАЖЕРНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ОБРАЗОВ В ИГРОВОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ДЛЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ДЕТЕЙ С ДЕТСКИМ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ

В. В. Горелик<sup>1</sup>✉, С. Н. Филиппова<sup>2</sup>, В. С. Беляев<sup>3</sup>, Е. В. Карлова<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Тольяттинский государственный университет, Тольятти, Россия

<sup>2</sup> Российский государственный социальный университет, Клин, Россия

<sup>3</sup> Московский городской педагогический университет, Москва, Россия

<sup>4</sup> Медицинский реабилитационный центр Сергиевские минеральные воды Федерального медико-биологического агентства, Самарская область, Россия

Число детей, рождающихся с диагнозом «детский церебральный паралич» (ДЦП), остается стабильно высоким. Ведется поиск новых подходов к реабилитации таких пациентов. Целью исследования было определить эффективность использования технологии игровой деятельности на основе визуализации образов в процессе физической реабилитации детей с ДЦП. В исследовании участвовали 16 мальчиков со спастической диплегией в возрасте 7–9 лет, разделенные на две группы: экспериментальную (ЭГ) и контрольную (КГ) — по 8 детей в каждой. В ЭГ занятия проводили на тренажере виртуальной реальности «Крисаф» 2 раза в неделю по 40 мин в течение 8 месяцев. Ребенок при этом находится в подвешенном горизонтальном положении и, используя специальные очки, смотрит на экран. В условиях имитации состояния погружения в морскую среду, при понижении гравитационных воздействий дети выполняют двигательные задания в игровой форме: ищут сокровища, соревнуются с дельфинами и т. д. Дети КГ посещали занятия ЛФК. Реабилитационные занятия детей со спастической формой ДЦП на тренажере «Крисаф» с элементами технологии виртуальной реальности приводили к значительному возрастанию двигательных возможностей. В ЭГ наблюдали рост показателей при проведении разных двигательных тестов, средние тестовые значения улучшились в 1,30–1,48 раза по сравнению с исходными данными. Улучшение результатов в ЭГ статистически достоверно отличалось от результатов КГ. У детей КГ результаты в среднем улучшились менее чем на 10% под влиянием ЛФК, в ЭГ — на 30–40%. Сделан вывод, что применение технологий виртуальной реальности способствует оптимизации нейрофизиологических процессов в корковых зонах двигательного анализатора, повышению адаптации к двигательным нагрузкам.

**Ключевые слова:** ДЦП, игровая деятельность, технологии виртуальной реальности, двигательные упражнения, адаптация

**Информация о вкладе авторов:** В. В. Горелик — концепция и дизайн исследования; С. Н. Филиппова — написание текста, редактирование, статистическая обработка; В. С. Беляев — редактирование рукописи; Е. В. Карлова — сбор и обработка материала, статистическая обработка.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено локальным этическим комитетом Тольяттинского государственного университета (протокол № 3 от 10 сентября 2018 г.). На участие в эксперименте для всех детей получено добровольное информированное согласие от их родителей.

✉ **Для корреспонденции:** Виктор Владимирович Горелик  
ул. Белорусская, 14, г. Тольятти, Самарская обл., 445020; lecgoy@list.ru

**Статья получена:** 19.07.2019 **Статья принята к печати:** 04.08.2019 **Опубликована онлайн:** 17.08.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.051

## EFFICIENCY OF IMAGE VISUALIZATION SIMULATOR TECHNOLOGY FOR PHYSICAL REHABILITATION OF CHILDREN WITH CEREBRAL PALSY THROUGH PLAY

Gorelik VV<sup>1</sup>✉, Filippova SN<sup>2</sup>, Belyaev VS<sup>3</sup>, Karlova EV<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Togliatti State University, Togliatti, Russia

<sup>2</sup> Russian State Social University, Klin, Russia

<sup>3</sup> Moscow City Pedagogical University, Moscow, Russia

<sup>4</sup> FGBUZ MRTs Sergievsky Mineral Waters of FMBA, Samara Region, Russia

The number of children born with cerebral palsy (CP) remains stably high. Novel approaches for rehabilitation of such patients are being sought. This study aimed to define the efficiency of the image visualization technologies in play activity for the physical rehabilitation of children with cerebral palsy. Sixteen boys with spastic diplegia aged 7–9 participated in the study. They were divided into treatment group (TG) and control group (CG), 8 children each. The TG patients were trained using the virtual reality based Krisaf training simulator twice a week for 40 minutes during 8 months. The child was suspended in the horizontal position and looked at the monitor through the specialised eyeglasses. Under the conditions of the marine environment immersion simulation with reduced gravity children performed motor tasks through play: searched for treasures, competed with dolphins etc. The CG patients attended the physical therapy lessons. Rehabilitation lessons using the virtual reality based Krisaf training simulator for children affected with spastic cerebral palsy led to a significant improvement of motor skills. Various motion tests showed an improvement over baseline, the average indicators increased 1.30–1.48 times. The difference between TG and CG results was statistically significant. In the CG referred to physical therapy the indicators increase was less than 10%, in the TG the increase reached 30–40%. It was concluded that the use of virtual reality based technologies promotes the optimization of neurophysiological processes in the motor analyzer cortical areas and better adaptation to motor loads.

**Keywords:** cerebral palsy, game situations, virtual reality technologies, motor actions, adaptation

**Author contribution:** Gorelik VV — study concept and design; Filippova SN — text writing and editing, statistical analysis; Belyaev VS — manuscript editing; Karlova EV — data acquisition and processing, statistical analysis.

**Compliance with ethical standards:** this study was approved by the Ethics Committee of Togliatti State University (protocol № 3 dated September 10, 2018). Parents of the children submitted the informed consent forms allowing their children to participate in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Viktor V. Gorelik  
Belorusskaya 14, Togliatti, 445020; lecgoy@list.ru

**Received:** 19.07.2019 **Accepted:** 04.08.2019 **Published online:** 17.08.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.051

По данным статистики, в России на фоне нестабильного уровня рождаемости по регионам увеличивается общая заболеваемость новорожденных детей. В 2018 г. в России около 8 детей из 1000 родились с диагнозом «детский церебральный паралич» (ДЦП), тенденции роста заболеваемости ранее регистрировали специалисты ВОЗ [1, 2].

ДЦП относится к полиэтиологическим патологиям, входит в группу заболеваний неврологического профиля и отличается многообразием патогенетических форм. Патология проявляется неврологическими симптомами, возникающими в результате поражения корковых отделов, а также мозжечковой области головного мозга. Ранний дебют заболевания и неэффективная диагностика приводят к преобладанию тяжелых форм структурно-функциональных нарушений опорно-двигательного аппарата: поддержания вертикальной позы, равновесия и тонуса мышечной системы [3–6]. Мышечный тонус (МТ) и его регуляцию относят к определяющим факторам произвольной двигательной активности человека. При ДЦП наблюдают различные мышечные нарушения: спазмированность, гипертонус, ригидность, гипотонус, дистония, атония [7–9].

Спастические формы ДЦП, проявляющиеся повышением МТ, доминируют по частоте распространения среди форм ДЦП. У больных мышцы чрезмерно напряжены вследствие повреждения пирамидной проводящей системы. При повышении МТ можно наблюдать деформации конечностей и сгибательные контрактуры (снижение объема пассивных движений в суставах). Спастика характерна для спастической диплегии и гемипаретической формы ДЦП [10–14]. Несмотря на распространенность ДЦП как тяжелой патологии, нарушающей психофизическую и социальную адаптацию пациентов, в реабилитации детей младшего школьного возраста существует дефицит методик, основанных на учете возрастной психофизической специфики больного ребенка [15–18]. Ведется поиск новых комплексных и интегративных подходов к реабилитации пациентов, включающих лечение сопутствующих патологий (эпилепсии, соматических болезней), медикаментозного и хирургического устранения спастики и органических повреждений мышц. Нам представляется перспективным разрабатывать методики воздействия на адаптационные механизмы и резервы организма детей возраста раннего и первого детства, активизации психофизиологических регуляторных механизмов двигательного анализатора, оптимизации эмоциональных процессов с учетом возрастных потребностей в игровой деятельности и мотивации двигательной активности.

Физическая реабилитация детей с ДЦП для достижения коррекционно-развивающих результатов должна быть основана на выборе эффективных средств воздействия на больного ребенка [19–21]. Особенно важно учитывать возрастную психофизическую специфику таких детей, чтобы создать оптимальные условия для формирования двигательных навыков у детей-инвалидов и повысить результативность процесса их реабилитации [22, 23].

У детей с ДЦП вырабатываются индивидуальные, принципиально отличные от формирующихся в процессе нормального онтогенеза, иерархические регуляторные системы двигательного анализатора, обеспечивающие выполнение произвольных и непроизвольных движений [10–17].

Известно, что двигательная активность является одной из основных физиологических составляющих нормального формирования и развития организма ребенка. Снижение двигательной активности приводит

к нарушению функционирования костно-мышечного аппарата, вызывающему изменения функций вегетососудистой и дыхательной систем, нарушение обменных процессов, снижение работоспособности [8, 18].

В основе любого движения лежит «пространственное чувство». Поступающую через сенсорную систему информацию мозг обрабатывает и использует для формирования локомоторных движений. При ДЦП у детей происходит аномальное развитие сенсорной системы, на поступающую информацию возникает неадекватная реакция, замедляется развитие локомоторных движений [16].

Нарушение моторного развития при ДЦП происходит как следствие расстройства регуляторных воздействий на мышечную систему со стороны корковых отделов двигательного анализатора, который является высшим центром управления функциями всей мышечной системы (МС) организма человека. В речевой деятельности двигательный компонент участвует в виде речедвигательных актов, поэтому ДЦП очень часто сопровождается нарушением речи пациентов [19].

Для пациентов с патологией опорно-двигательного аппарата и неврологическими заболеваниями характерно формирование измененных двигательных стереотипов, патологически неверных движений. Они формируются вследствие стремления больных снизить болевые ощущения или компенсировать слабую работу гипотоничных мышц [20]. Это приводит к смещению центра тяжести и неправильной походке, что усугубляет течение болезни, поэтому в процессе реабилитации стоит задача коррекции патологических двигательных стереотипов. Тренажер «Крисаф» регистрирует силу давления тела по всей площади (в положении лежа) и позволяет обнаружить данные проблемы на ранней стадии и успешно устранять их. Для выявления его реабилитационных возможностей был проведен педагогический эксперимент (ПЭ) с применением тренажера «Крисаф» на этапе формирующих реабилитационных воздействий.

Целью исследования было определить реабилитационные возможности технологии игровой деятельности с визуализацией образов на базе аппаратно-программного комплекса «Крисаф» в процессе комплексной физической реабилитации больных ДЦП детского возраста (7–9 лет) со спастическими формами нарушений двигательных функций.

Задачи исследования: 1) оценить исходный уровень двигательных функций у детей со спастической формой ДЦП в возрасте 7–9 лет; 2) экспериментально определить эффективность применения технологий виртуальной реальности тренажера «Крисаф» для развития двигательных функций у детей со спастической формой ДЦП в возрасте 7–9 лет; 3) проанализировать реабилитирующие факторы технологии «виртуальной реальности» при игровой деятельности и их возможное влияние на различные виды двигательных навыков детей, больных ДЦП.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

### Организация исследования и методы диагностики состояния мышечной системы у детей 7–9 лет с диагнозом ДЦП

Исследование проходило в течение 8 месяцев (с сентября 2018 г. по апрель 2019 г.) на базе ФГБУЗ МРЦ Сергиевские минеральные воды ФМБА России. В нем участвовало 16 мальчиков с ДЦП в возрасте 7–9 лет. Критерии включения в исследование: дети с ДЦП (спастическая диплегия);

дети одного пола; дети сходного возраста, соотношения роста и массы тела. Все участники исследования были разделены на две группы (по 8 детей): экспериментальную (ЭГ) и контрольную (КГ). В ЭГ занятия проходили на тренажере виртуальной реальности «Крисаф» по 2 раза в неделю по 40 мин в течение 8 месяцев и 2 раза в неделю дети занимались лечебной физкультурой (ЛФК). Дети в КГ занимались только ЛФК 2 раза в неделю.

Критерии исключения: наличие острых инфекционных заболеваний; наличие иных медицинских противопоказаний к занятиям ЛФК. Физические показатели детей ЭГ и КГ были сходными.

### Педагогический эксперимент (ПЭ)

ПЭ проводили в период с сентября 2018 г. по апрель 2019 г., он включал констатирующий, формирующий и контрольный этапы.

1. На *констатирующем этапе* выполняли диагностику исходных показателей состояния мышечной системы у детей с диагнозом ДЦП 7–9 лет.

2. На *формирующем этапе* дети ЭГ занимались на тренажере «Крисаф» с элементами технологии виртуальной реальности и 2 раза в неделю ЛФК, а дети КГ занимались с инструктором по стандартной программе ЛФК для реабилитации детей с ДЦП.

3. На *контрольном этапе* ПЭ проводили итоговые измерения показателей методами, аналогичными использованным в начале ПЭ.

### Двигательные тесты

Измерение двигательных возможностей детей с ДЦП проводили с помощью комплекса двигательных тестов, позволяющих определить состояние опорно-двигательного аппарата и мышечной системы у детей.

#### 1. Оценка статической выносливости мышц спины

Удержание головы из положения лежа на спине.

*Исходное положение:* лежа на спине. Инструктор берет ребенка за запястья и приподнимает его. Ребенок должен поднять голову и удерживать ее в этом положении. Результат фиксируют в секундах.

Удержание головы из положения лежа на животе.

*Исходное положение:* лежа на животе, руки согнуты в локтевых суставах и находятся на уровне плеч. Ребенок выпрямляет руки и поднимает голову. Результат фиксируют в секундах.

#### 2. Оценка скоростно-силовой выносливости мышц брюшного пресса

Подъем туловища из положения лежа на спине.

*Исходное положение:* лежа на спине; инструктор фиксирует ноги, согнутые в коленных суставах. Ребенок самостоятельно поднимается из исходного положения и касается грудью колен. Результат фиксируют в количестве повторений.

#### 3. Оценка скоростно-силовой выносливости мышц рук

Сгибание и разгибание рук.

*Исходное положение:* сидя на стуле. Ребенок свешивает кисти рук с подлокотников. Необходимо поочередно

сгибать и разгибать правую и левую кисти по 10 раз. Результат фиксируют в секундах, в норме ребенок должен уложиться за 12–15 с.

Сгибание пальцев в «колечко».

*Исходное положение:* сидя на стуле. Ребенок поочередно должен коснуться большим пальцем каждого последующего пальца, образуя колечко. Результат фиксируют в секундах.

#### 4. Оценка скоростно-силовой выносливости мышц ног

Подъем ног.

*Исходное положение:* лежа на спине. Ребенок поочередно поднимает ноги и сгибает их в коленном суставе. Результат фиксируют в секундах.

### Статистическая обработка

Результаты исследования обрабатывали с использованием методов математической статистики: одновыборочного критерия оценки нормальности распределения Колмогорова–Смирнова и параметрического *t*-критерия Стьюдента. Статистическую значимость различий определяли на уровне  $p < 0,05$ .

Применение критерия Колмогорова–Смирнова к полученным данным выявило распределение исследуемых переменных в границах нормальности, что позволило в дальнейшем использовать параметрический *t*-критерий Стьюдента для связанных и несвязанных выборок.

Результаты экспериментального исследования обрабатывали с помощью программы SPSS 17.0 for Windows (IBM; США).

### Метод формирующих воздействий на детей 7–9 лет с диагнозом ДЦП с использованием тренажера «Крисаф»

В работе для формирующих воздействий в ПЭ использовали тренажер «Крисаф» (производство ООО «Крисаф»; Россия), с помощью которого происходит имитация движений больного ДЦП ребенка в водной среде [4, 21].

Тренажер «Крисаф» с помощью изображений, выведенных на монитор, образуют *целостные визуальные образы*; аудиосигналы, передаваемые через наушники, направляют пациента на корректировку своих двигательных действий. Благодаря этому можно тренировать правильное выполнение движений и формировать новые, приближенные к нормальным, двигательные стереотипы.

Физическая реабилитация детей с ДЦП — трудоемкий и сложный процесс, требующий значительных усилий медицинского персонала и инструкторов ЛФК. Происходит моделирование виртуальной реальности, имитирующей «погружение» ребенка в игровую водную среду. Игровая ситуация побуждает ребенка к двигательной активности, состоящей в имитации движений в водной среде, при этом ребенка удерживает специальная пневматическая система, что обеспечивает состояние пониженных гравитационных воздействий. В данном состоянии ребенок может более точно выполнять движения при ослабленной мышечной силе и нарушении координации вследствие ДЦП. В основе двигательной работы пациента с использованием тренажера лежит выполнение им волнообразных движений, чем-то напоминающих движения дельфина [22, 23]. Важна игровая ситуация, поскольку игровая деятельность является ведущей для маленьких пациентов.



Тренажер «Крисаф» у детей с ДЦП: а) улучшает восприятие информации и качество выполнения произвольных движений за счет визуализации образов; б) активирует функции правого полушария элементами виртуальной реальности, облегчает выполнение движений за счет понижения гравитации.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На констатирующем этапе исследования было проведено предварительное тестирование, чтобы определить исходный уровень развития двигательных навыков детей с ДЦП (табл. 1).

По результатам исходного тестирования можно заключить, что между исследуемыми группами нет достоверных различий в показателях развития двигательных характеристик детей с диагнозом ДЦП.

После проведения курса занятий с использованием моделируемых на тренажере «Крисаф» технологий виртуальной реальности для выявления их эффективности в процессе физической реабилитации детей с ДЦП было проведено контрольное тестирование обеих групп (табл. 2).

В результате проведенного повторного обследования с помощью двигательных тестов на контрольном этапе ПЭ была выявлена выраженная положительная динамика результатов в ЭГ и незначительные изменения показателей в КГ. Между контрольной и экспериментальной группами обнаружены достоверные различия полученных результатов. На рис. 1 и 2 представлены результаты тестов удержания головы из положения лежа на спине и удержания головы из положения лежа на животе в КГ и ЭГ до и после исследования.

Время удержания головы у детей в ЭГ возросло на 9 с (на спине) и 8,5 с (на животе), что соответствует возрастанию на 32% силовых возможностей и выносливости мышц верхнего плечевого пояса (ВПП) у детей с ДЦП. Это важно для нормализации функций верхних конечностей, кроме того, повышение активности этих мышечных групп

способствует улучшению кровоснабжения головного мозга. В КГ прирост силовых качеств мышц ВПП составил 3,8% (на спине) и 7% (на животе), различия с исходными результатами тестов не были статистически достоверными. Таким образом, можно утверждать, что использование тренажерных технологий виртуальной реальности эффективно для реабилитационных занятий с детьми 7–9 лет при спастической форме ДЦП. Такая выраженная эффективность занятий связана с активизацией нейрофизиологических механизмов правого полушария и повышением адаптационных возможностей организма [14, 17].

На рис. 3 представлены результаты двигательного теста с подъемом туловища из положения лежа на спине.

Результаты теста с подъемом туловища из положения лежа на спине показывают, что сила мышц спины и живота в ЭГ достоверно возросла в 1,9 раза после тренажерных занятий по сравнению с исходными данными, т. е. с 7,6 до 14,6 движений, тогда как в КГ силовые качества этих мышц практически не изменились. Эти данные служат косвенным подтверждением улучшения двигательных навыков и адаптационных механизмов у детей 7–9 лет со спастической формой ДЦП, свидетельствуют о хорошем реабилитационном эффекте воздействия тренажера «Крисаф» с технологией виртуальной реальности.

На рис. 4 и 5 представлены результаты двигательных тестов на сгибание и разгибание рук и сгибание пальцев в «колечко».

Скоростные качества мышц верхнего плечевого пояса, мышц сгибателей-разгибателей верхних конечностей, а также мышц мелкой моторики пальцев рук возросли в ЭГ после реабилитационных занятий на тренажере «Крисаф». Для мышц ВПП время выполнения теста сократилось на 6,3 с (35%), а в КГ на 2,2 с (11%). Мелкая моторика рук в ЭГ также улучшилась — время выполнения теста сократилось на 5,8 с (29%), а в КГ на 0,3 с (1,5%). Это свидетельствует о благоприятных условиях, которые возникают при визуализации образов для тренировочных

**Таблица 1.** Результаты тестирования состояния опорно-двигательного аппарата детей с ДЦП 7–9 лет на констатирующем этапе ПЭ

№ п/п	Тесты	ЭГ М ± m	КГ М ± m	t-критерий Стьюдента
1	Удержание головы из положения лежа на спине (с)	19,7 ± 2,7	20,6 ± 2,6	0,7
2	Удержание головы из положения лежа на животе (с)	17,4 ± 2,1	16,9 ± 2,04	0,34
3	Подъем туловища из положения лежа на спине (кол-во раз)	7,6 ± 1,4	7,3 ± 1,8	0,13
4	Сгибание и разгибание рук (с)	18,7 ± 2,8	19,9 ± 2,65	0,4
5	Сгибание пальцев в «колечко» (с)	20,2 ± 3,1	19,6 ± 2,9	0,32
6	Подъем ног (с)	15,5 ± 2,4	15,5 ± 2,4	0,12

**Примечание:** М — среднее арифметическое; m — ошибка среднего; p — достоверность различий между результатами ЭГ и КГ; результаты в группах не имеют статистически достоверных различий ( $p > 0,05$ ).

**Таблица 2.** Результаты повторного тестирования состояния опорно-двигательного аппарата у детей 7–9 лет с ДЦП на контрольном этапе ПЭ

№ п/п	Тесты	ЭГ М ± m	КГ М ± m	t-критерий Стьюдента
1	Удержание головы из положения лежа на спине (с)	28,7 ± 3,8*	21,4 ± 3,6	2,4
2	Удержание головы из положения лежа на животе (с)	25,9 ± 2,76*	18,9 ± 2,5	2,54
3	Подъем туловища из положения лежа на спине (количество раз)	14,6 ± 2,1*	8,4 ± 1,5	3,13
4	Сгибание и разгибание рук (с)	12,4 ± 1,32*	17,7 ± 1,7	3,1
5	Сгибание пальцев в «колечко» (с)	14,4 ± 2,9*	18,6 ± 3,1	2,5
6	Подъем ног (с)	22,9 ± 2,36*	16,7 ± 2,4	3,03

**Примечание:** М — среднее арифметическое; m — ошибка среднего; ЭГ — экспериментальная группа; КГ — контрольная группа; \* — достоверные различия между результатами ЭГ и КГ,  $p < 0,05$ .

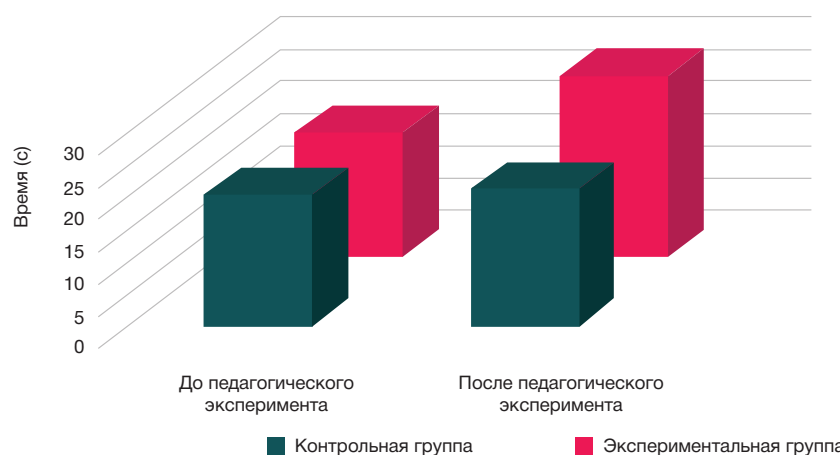


Рис. 1. Сравнительные данные двигательного теста «удержание головы из положения лежа на спине» детей с ДЦП 7–9 лет КГ и ЭГ на контрольном этапе ПЭ

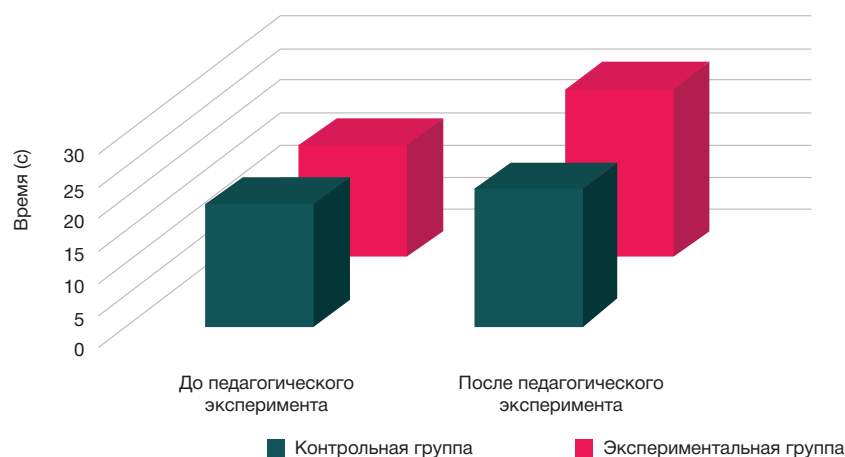


Рис. 2. Сравнительные данные двигательного теста «удержание головы из положения лежа на животе» детей с ДЦП 7–9 лет КГ и ЭГ на контрольном этапе ПЭ

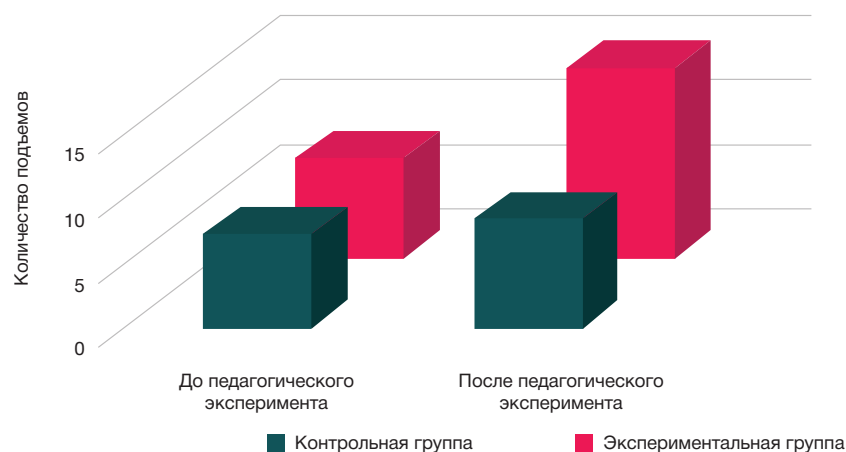


Рис. 3. Результаты двигательного теста «подъем туловища из положения лежа на спине» детей с ДЦП 7–9 лет КГ и ЭГ на контрольном этапе ПЭ

упражнений, по сравнению с вербальными командами и указаниями методистов ЛФК для детей возраста 7–9 лет, у которых речевые функции формируются с задержкой из-за речедвигательных нарушений. Улучшение мелкой моторики рук детей с ДЦП под влиянием реабилитации с элементами визуализации связано с активацией корковых зон двигательного анализатора, при этом возрастает скорость выполнения мелких дифференцированных движений пальцев рук.

На рис. 6 представлены данные по двигательному тесту «удержание ног в поднятом положении» у детей 7–9 лет с ДЦП.

При определении скоростно-силовых качеств мышц нижних конечностей видно, что средний результат увеличился

в ЭГ — на 7,4 с (33%), а в КГ — на 1,2 с (6%). Эти данные указывают на эффективность реабилитационных мероприятий у детей со спастической формой ДЦП с применением технологии «визуализации образов» на тренажере «Крисаф». Увеличение двигательных возможностей нижних конечностей у таких пациентов свидетельствует о тенденции к улучшению нейрофизиологических процессов в корковых зонах двигательного анализатора, повышению адаптации к двигательным нагрузкам при возрастании сбалансированности функций правого полушария с помощью метода визуализации образов.

Таким образом, при сравнении показателей ЭГ и КГ на контрольном этапе ПЭ были выявлены достоверные

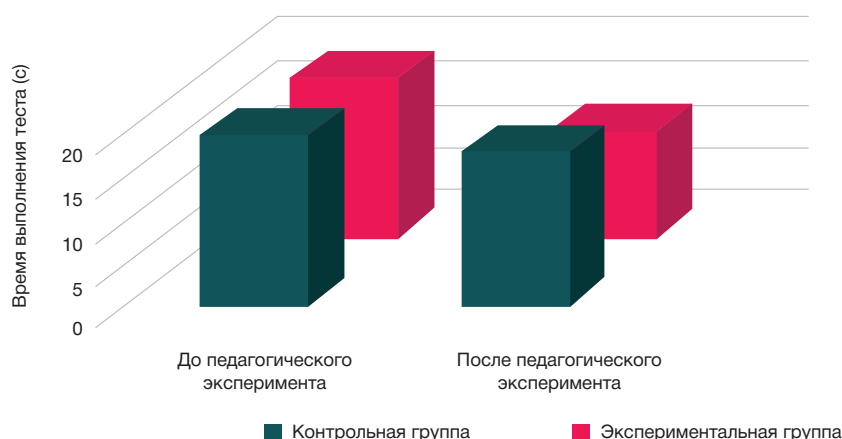


Рис. 4. Результаты двигательного теста «сгибание и разгибание рук» детей с ДЦП 7–9 лет КГ и ЭГ на контрольном этапе ПЭ

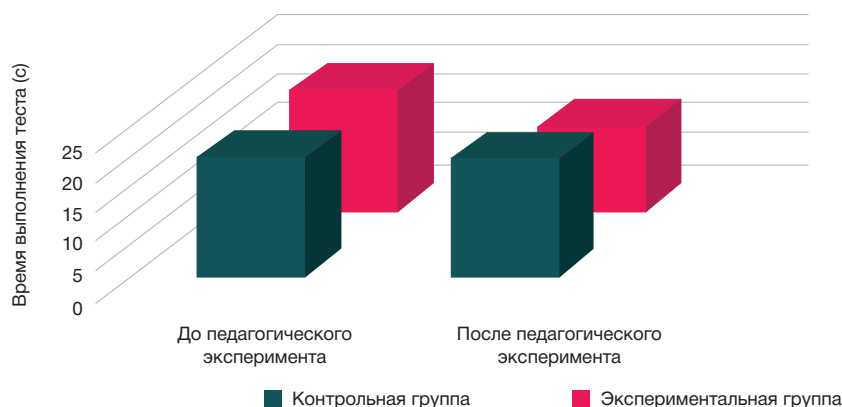


Рис. 5. Результаты двигательного теста «сгибание пальцев в "колючку"» детей с ДЦП 7–9 лет КГ и ЭГ на контрольном этапе ПЭ

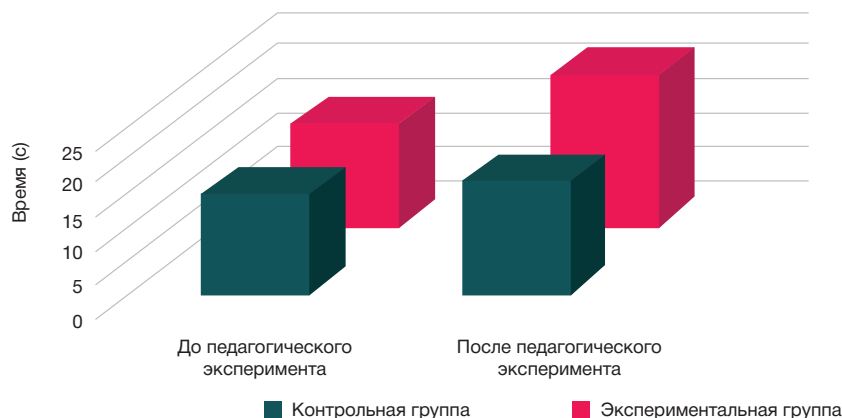


Рис. 6. Результаты двигательного теста «удержание ног в поднятом положении» детей с ДЦП 7–9 лет КГ и ЭГ на контрольном этапе ПЭ

улучшения показателей в ЭГ, значительно превышающие улучшения в КГ. Эти различия обусловлены тем, что в занятия экспериментальной группы были внедрены технологии виртуальной реальности, в то время как КГ занималась по стандартной программе ЛФК.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенные исследования показали, что механизмы влияния технологий виртуальной реальности как на управляющие, так и на исполнительные звенья двигательного анализатора изучены недостаточно. Можно предположить, что погружение детей в условия пониженных гравитационных воздействий и в виртуальную реальность водной среды способствует релаксации, непроизвольному расслаблению всех мышц, как это

происходит при реальном погружении в воду. При помощи комплексного нейрофизиологического и сенсорного воздействия тренажера мышцы начинали работать и улучшалась сомато-сенсорная интеграция, что повышало эффективность занятий и улучшало реабилитацию детей с ДЦП.

Стимуляция активности правого полушария визуальными образами, более доступными для понимания детей 7–9 лет с диагнозом ДЦП, чем вербальные инструкции методиста, облегчает выполнение ими упражнений [19]. К тому же могут активироваться адаптационные механизмы организма, ассоциированные с правым полушарием [17]. Положительные эмоции от занятий в игровой форме способствуют расслаблению спазмированных мышц [3]. Таким образом, воздействие тренажера «Крисаф» с технологией виртуальной реальности на

различные нейрофизиологические и сенсорные механизмы имеет интегративное реабилитирующее воздействие на психофизическое состояние детей 7–9 лет со спастической формой ДЦП. Это свидетельствует о благоприятных условиях для выполнения двигательных упражнений детьми с ДЦП при визуализации образов по сравнению с вербальными указаниями методистов ЛФК. Поскольку дети с ДЦП в возрасте 7–9 лет зачастую отстают в речевом развитии и им трудно понимать смысл речевых инструкций, коммуникация инструктор–пациент нарушается. С помощью образов взаимопонимание и взаимодействие восстанавливаются.

В настоящее время тренажерные методы привлекают пристальное внимание исследователей даже в такой сложной области их применения, как реабилитация детей с различными формами ДЦП. Новые виды тренажеров для этих целей разрабатывают с учетом последних достижений в научном понимании патогенеза заболеваний, в том числе ДЦП. В то же время практика применения и исследования с применением тренажерных методов дают ценный научный материал для понимания механизмов коррекции и реабилитации организма больного человека.

Использованный в настоящей работе тренажер с методом визуализации образов и создания виртуальной реальности удовлетворяет потребность ребенка 7–9 лет в важной для этого возраста игровой деятельности. Тренажер помогает воздействовать как на регуляторные нейропатологические, психопатологические, так и на исполнительные звенья двигательного анализатора, психологические процессы и качество жизни реабилитируемых детей.

Полученные в данной работе результаты выраженного улучшения состояния мышечно-двигательной системы

детей с помощью технологии виртуальной реальности открывают перспективы дальнейшего более углубленного исследования регуляторных механизмов общих и индивидуальных восстановительных процессов у детей с ДЦП.

## ВЫВОДЫ

1. Реабилитационные занятия детей со спастической формой ДЦП на тренажере «Крисаф» с элементами технологии «виртуальной реальности» приводили к значительному (в 1,3–1,5 раза) возрастанию двигательных возможностей детей 7–9 лет со спастической формой ДЦП.
2. Значительно возросли показатели силы и выносливости мышц верхнего плечевого пояса и нижних конечностей, что свидетельствует об эффективности реабилитации тренажером «Крисаф» с использованием технологии визуализации образов. Силовая выносливость мышц спины и живота в ЭГ возросла в 1,9 раза, повысилась адаптация к двигательным нагрузкам, тогда как в КГ эти характеристики изменились незначительно.
3. После занятий на тренажере с образной визуализацией возросла скорость движений в верхних конечностях, улучшилась мелкая моторика рук. Улучшение мелкой моторики рук детей с ДЦП свидетельствует о большей сбалансированности нейрофизиологических процессов корковых зон двигательного анализатора.
4. Полученная положительная динамика двигательных возможностей детей с ДЦП при использовании в реабилитационных целях инновационных технологий виртуальной реальности свидетельствует об оптимизации нейрофизиологических процессов в корковых зонах двигательного анализатора, повышении адаптации к двигательным нагрузкам.

## Литература

1. Головач М. В. Современные тенденции роста детского церебрального паралича. Материалы Первого Международного конгресса «Проблемы комплексной реабилитации детей, страдающих детским церебральным параличом» 2–3 марта 2006. М., 2006; 37–8.
2. Шалина О. С., Журавлева О. С. Исследование особенностей соматосенсорной интеграции у детей с детским церебральным параличом. VIII междисциплинарный научно-практический конгресс с международным участием «Детский церебральный паралич и другие нарушения движения у детей». Материалы конгресса. М., 2018; 128–9.
3. Малкова Е. Е. Проблема повышения эффективности системы медико-психолого-социальной реабилитации детей с ДЦП. VIII междисциплинарный научно-практический конгресс с международным участием «Детский церебральный паралич и другие нарушения движения у детей». Материалы конгресса. М., 2018; 96–7.
4. Микадзе Ю. В. Нейропсихология детского возраста: учебное пособие. СПб.: Питер, 2013; 288 с.
5. Иванова Е. В., Никитина Д. Н. Основные принципы и аспекты использования лечебной физической культуры в комплексной реабилитации детей и подростков с ДЦП. В сборнике: Исследование различных направлений психологии и педагогики. Сборник статей Международной научно-практической конференции. М., 2018; 69–72.
6. Блюм Е. Э., Блюм Н. Э., Антонов А. Р. К вопросу реабилитации детей, страдающих детским церебральным параличом (ДЦП). Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2004; (1): 96–9.
7. Баранов А. А., Клочкова О. А., Куренков А. Л. и др. Роль пластичности головного мозга в функциональной адаптации организма при церебральном параличе с поражением рук. Педиатрическая фармакология. 2013; (9): 6–11.
8. Быкова О. В., Платонова А. Н., Балканская С. В., Батышева Т. Т. Детский церебральный паралич и эпилепсия: подходы к лечению и реабилитации. Журнал неврологии и психиатрии. 2014; (7): 25–34.
9. Власенко С. В., Голубова Т. Ф. Особенности коррекции спастических контрактур, сочетающихся с изменением мышц конечностей у больных ДЦП. В сборнике: VIII междисциплинарный научно-практический конгресс с международным участием «Детский церебральный паралич и другие нарушения движения у детей». Материалы конгресса. М., 2018; 52–3.
10. Бадалян Л. О. Детские церебральные параличи. М.: Медиа, 2015; 983 с.
11. Банди А., Лейн Ш., Мюррей Э. Сенсорная интеграция. Теория и практика. М.: Теревинф, 2018; 768 с.
12. Хлынов Д. Ю., Филиппова С. Н. Стретчинг: перспективы применения для оздоровления и реабилитации населения. М.: Телер, 2019; 139 с.
13. Новикова Т. В. Физическая реабилитация детей 8–12 лет с ДЦП в форме спастической диплегии. В сборнике: Лечебная физическая культура: достижения и перспективы развития. Материалы VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. М., 2017; 162–6.
14. Федина Р. Г., Филиппова С. Н. Нейрофизиологические и гормонально-регуляторные детерминанты адаптации населения РФ в экстремальных и субэкстремальных климатических регионах. В сборнике: XIV Международный Междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии. Материалы конгресса 30 мая — 10 июня 2018.



Судак: Крым, 2018; 471.

15. Воронин Д. М., Чайченко М. В. Технологии использования физической реабилитации при восстановлении детей с ДЦП. Проблемы современного педагогического образования. 2019; 63 (2): 95–9.
16. Корсакова Е. А. Роль вертикализации и ортопедической коррекции в медицинской реабилитации детей с ДЦП. Вестник физиотерапии и курортологии. 2015; 21 (2): 133a–133.
17. Филиппова С. Н., Егозина В. И., Матвеев Ю. А. Физическая реабилитация детей с диагнозом ДЦП на основе определения скорости формирования церебральных моторных программ. Культура физическая и здоровье. 2017; (1): 7–11.
18. Абасов Р. Г., Горелик В. В. Особенности координационных способностей детей ДЦП в возрасте 10–12 лет при занятии мини футболом. Сборник. Проблемы и перспективы физического воспитания, спортивной тренировки и адаптивной физической культуры материалы Всероссийской с международным участием научно-практической конференции. Казань: ФГБОУ ВО «Поволжская государственная академия физической культуры, спорта и туризма», 2018; 788–92.
19. Лобастова И. В. Влияние физической реабилитации на развитие когнитивной сферы у детей с ДЦП. Сибирский психологический журнал. 2010; (36): 59–61.
20. Галиева Г. Ю., Панченко Т. Н., Валуева И. В. и др. Современные подходы и методы физической терапии в реабилитации детей с ДЦП в условиях клинического психоневрологического санатория. 2018; (17): 72–5.
21. Баранов А. А., Намазова-Баранова Л. С., Кузенкова Л. М. и др. Детский церебральный паралич у детей. Клинические рекомендации. Министерство здравоохранения РФ, Союз педиатров России. М., 2016; 478 с.
22. Добрынина Е. А. Физическая реабилитация детей с ДЦП. Вестник науки и образования. 2018; 1; 4 (40): 109–10.
23. Троска З. А., Шершнев О. А. Совершенствование профессиональной реабилитации детей, больных ДЦП. Ученые записки Российского государственного социального университета. 2015; 14 (3): 156–67.

## References

1. Golovach MV. Modern trends in the growth of cerebral palsy. Materials of the First International Congress "Problems of complex rehabilitation of children suffering from cerebral palsy". March 2–3, 2006. M., 2006; 37–8.
2. Shalina OS, Zhuravleva OS. Study of somatosensory integration in children with cerebral palsy. VIII interdisciplinary scientific and practical Congress with international participation "Cerebral palsy and other movement disorders in children". The proceedings of the Congress. M., 2018; p. 128–9.
3. Malkova EE. the Problem of improving the effectiveness of the system of medical, psychological and social rehabilitation of children with cerebral palsy. VIII interdisciplinary scientific and practical Congress with international participation "Cerebral palsy and other movement disorders in children". The proceedings of the Congress. M., 2018; p. 96–7.
4. Mikadze YuV. Neuropsychology of childhood: textbook. St. Petersburg: Peter, 2013; 288.
5. Ivanova EV, Nikitina DN. Basic principles and aspects of the use of therapeutic physical culture in the comprehensive rehabilitation of children and adolescents with cerebral palsy. In the collection: the Study of various areas of psychology and pedagogy. Collection of articles of the International scientific-practical conference. M., 2018; p. 69–72.
6. Blum EE, Blum NE, Antonov AR. To the issue of rehabilitation of children suffering from cerebral palsy (cerebral palsy). Bulletin of the peoples' friendship University of Russia. Series: Medicine. 2004; (1): 96–9.
7. Baranov AA, Klochova OA, Kurenkov AL, et al. The Role of brain plasticity in the functional adaptation of the body in cerebral palsy with hand injury. Pediatric pharmacology. 2013; (9): 6–11.
8. Bykova OV, Platonova AN, Balkanskaya SV, Batysheva TT. Children's cerebral palsy and epilepsy: approaches to treatment and rehabilitation. Journal of neurology and psychiatry. 2014; (7): 25–34.
9. Vlasenko SV, Golubova TF. Features of correction of spastic contractures, combined with changes in limb muscles in patients with cerebral palsy. In the collection: VIII interdisciplinary scientific and practical Congress with international participation "Cerebral palsy and other movement disorders in children." The proceedings of the Congress. M., 2018; p. 52–3.
10. Badalyan LO. Children's cerebral palsy. M.: Media, 2015; 983.
11. Bundy A, Lane S, Murray E. Sensory integration. Theory and practice. M.: Terevinf, 2018; 768.
12. Khlynov DYU, Filippova SN. Stretching: prospects of application for improvement and rehabilitation of the population, monograph. M.: Teler, 2019; 139.
13. Novikova TV. Physical rehabilitation of children 8–12 years with cerebral palsy in the form of spastic diplegia. In the collection: Medical physical culture: achievements and prospects of development. Proceedings of the VI all-Russian scientific-practical conference with international participation. M., 2017; p. 162–6.
14. Fedina RG, Filippova SN. Neurophysiological and hormonal-regulatory determinants of adaptation of the Russian population in extreme and sub-extreme climatic regions. In the collection: XIV international Interdisciplinary Congress "Neuroscience for medicine and psychology. The proceedings of the Congress. 30 may — 10 June 2018. Sudak: Crimea, 2018; 471.
15. Voronin DM, Chaychenko MV. Technology, the use of physical rehabilitation in the recovery of children with cerebral palsy. Problems of modern pedagogical education. 2019; 63 (2): 95–9.
16. Korsakov EA. the Role of verticalization and orthopedic correction in medical rehabilitation of children with cerebral palsy. Bulletin of physiotherapy and balneology. 2015; 21 (2): 133a–133.
17. Filippova SN, Egoshina VI, Matveev YuA. Physical rehabilitation of children with cerebral palsy on the basis of determining the rate of formation of the cerebral motor programs. Physical culture and health. 2017; (1): 7–11.
18. Abasov RG, Gorelik VV. Features of coordination abilities of children of cerebral palsy at the age of 10–12 years at occupation by mini football. Collector. Problems and prospects of physical education, sports training and adaptive physical culture materials of the all-Russian conference with international participation. VOLGA region state Academy of physical culture, sports and tourism. Kazan, 2018; 788–92.
19. Lobastova IV. Influence of physical rehabilitation on the development of cognitive sphere in children with cerebral palsy. Siberian psychological journal. 2010; (36): 59–61.
20. Galieva GYu, Panchenko TN, Valueva IV, et al. Modern approaches and methods of physical therapy in rehabilitation of children with cerebral palsy in a clinical psychoneurological sanatorium. 2018; (17): 72–5.
21. Baranov AA, Namazova-Baranova LS, Kuzenkova LM, et al. Children's cerebral palsy in children. Clinical guidelines. Ministry of health of the Russian Federation, Union of pediatricians of Russia. M., 2016; 478.
22. Dobrynina EA. Physical rehabilitation of children with cerebral palsy. Bulletin of science and education. 2018; 1, 4 (40): 109–10.
23. Troska ZA, Shershnev OA. Improvement of professional rehabilitation of children with cerebral palsy. Scientific notes of the Russian state social University. 2015; 14 (3): 156–67.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВНУТРИКОСТНОГО ВВЕДЕНИЯ АУТОЛОГИЧНОЙ ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ В ЗОНУ ОТЕКА КОСТНОГО МОЗГА ПРИ ОСТЕОАРТРОЗЕ КОЛЕННОГО СУСТАВА

А. В. Лычагин, А. В. Гаркави, О. И. Ислайех , П. И. Катунян, Д. С. Бобров, Р. Х. Явдиева, Е. Ю. Целищева


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

Остеоартроз (ОА) поражает как пожилых людей, для которых он одна из основных причин инвалидности, так и лиц трудоспособного возраста и является актуальной клинической и социальной проблемой ввиду устойчивости болевого синдрома к проводимой терапии. Заболеванию характерна деструкция внутрисуставных и параартикулярных структур, таких как субхондральная кость. При ОА важным признаком патологических изменений служит отек костного мозга (ОКМ). В работе рассмотрены вопросы влияния ОКМ на развитие гонартроза, а также терапевтические подходы к ведению пациентов с ОА. Целью исследования была разработка методики лечения ОКМ при ОА коленного сустава путем локального внутрикостного введения в зону отека аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы (PRP). Исследовали 17 пациентов с диагнозом «Остеоартроз II–IV ст.» по классификации Kellgren–Lawrence, у которых на МРТ в субхондральной зоне выявлены области локального воспаления в виде ОКМ в соответствии с международной классификацией WORMS. Средний возраст пациентов составил  $41,7 \pm 14,3$  лет. Пациентам внутрикостно из внесуставного доступа в зону ОКМ вводили аутологичную обогащенную тромбоцитами плазму под рентгеноскопическим контролем. Оценку эффективности лечения проводили по шкалам ВАШ, WOMAC и KOOS до введения аутоплазмы, через 1 и 3 месяца после начала лечения. Через 3 месяца после манипуляции отмечалось статистически значимое снижение показателей интенсивности воспалительного синдрома: по WOMAC на 17,5%, KOOS на 19,4% и по ВАШ на 33,1% ( $p < 0,01$ ). Таким образом, доказана эффективность внутрикостного введения аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении пациентов с ОА, сопровождающимся ОКМ в субхондральной зоне.

**Ключевые слова:** отек костного мозга, остеоартроз, аутологичная обогащенная тромбоцитами плазма, внутрикостное введение, качество жизни

**Информация о вкладе авторов:** А. В. Лычагин и О. И. Ислайех — планирование исследования, подбор литературы, интерпретация данных, подготовка черновика рукописи; А. В. Гаркави — планирование исследования, интерпретация данных; П. И. Катунян — планирование исследования, подготовка черновика рукописи; Д. С. Бобров, Р. Х. Явдиева и Е. Ю. Целищева — планирование исследования.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено локальным комитетом по этике ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова (протокол № 06–18 от 06 июня 2018 г.). Все пациенты подписали добровольное информированное согласие.

 **Для корреспонденции:** Осама Ибрахим Ислайех  
ул. Большой Тишинский переулок, д. 26/15, г. Москва, 123557; osaisbo@yahoo.com

**Статья получена:** 12.07.2019 **Статья принята к печати:** 26.07.2019 **Опубликована онлайн:** 20.08.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.053

## EFFECTIVENESS OF INTRAOSSEOUS INFILTRATION OF AUTOLOGOUS PLATELET-RICH PLASMA IN THE AREA OF THE BONE MARROW EDEMA IN OSTEOARTHRITIS OF THE KNEE JOINT

Lychagin AV, Garkavi AV, Islaieh OI , Katunyan PI, Bobrov DS, Yavdieva RH, Tselisheva EYu


I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Osteoarthritis (OA) affects both elderly people, for whom it is one of the main causes of disability, and people of active working age and is an urgent clinical and social problem of resistance of pain syndrome to therapy. The disease is characterized by both destruction of intra-articular and para-articular structures, such as subchondral bone. While OA is an important sign of pathological changes believe the bone marrow edema (BME). This work examines the effect of BME on development osteoarthritis, and therapeutic approaches to the management of patients with OA. The aim of the study was to develop a method of treatment of BME in OA of the knee joint by locally intraosseous injection of autologous thrombotic-rich plasma (PRP) into the edema zone. In this study 17 patients with the diagnosis: Osteoarthritis II–IV Grade. according to the classification of Kellgren–Lawrence, in which areas of local inflammation in the form of BME were detected on MRI in the subchondral zone in accordance with the international classification of WORMS (Whole Organ Magnetic Resonance Imaging Score). The mean age of patients was  $41,7 \pm 14,3$  years, 10 of them were women and 7 men. Patients were treated with autologous platelet-rich plasma under x-ray control injected from extra-articular intraosseous access in the area of BME. Evaluation of effectiveness of treatment performed by VAS, WOMAC and KOOS scales, before the introduction of autoplasm, after 1 and 3 months after the start of treatment. Three months after the manipulation, there was a statistically significant decrease in the intensity of inflammatory syndrome: for WOMAC by 17.5%, for KOOS by 19.4% and for VAS by 33.1% ( $p < 0,01$ ). Thus, the efficiency of intraosseous infiltration of autologous platelet-rich plasma in the treatment of patients with OA, accompanied by edema of the bone marrow in the subchondral zone, was proved.

**Keywords:** bone marrow edema, osteoarthritis, autologous platelet-rich plasma, intraosseous Infiltration, quality of life

**Author contribution:** Lychagin AV and Islaieh OI — research planning, literature collection and analysis, data interpretation, draft preparation; Garkavi AV — research planning, data interpretation; Katunyan PI — research planning, draft preparation; Bobrov DS, Yavdieva RH and Tselisheva EYu — research planning.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the local ethics committee of the Sechenov University (protocol № 06–18 dated June 06, 2018). All patients agreed to participate in the study in writing.

 **Correspondence should be addressed:** Osama I. Islaieh  
Bolshoi Tishinsky Pereulok 26/15, Moscow, 123557; osaisbo@yahoo.com

**Received:** 12.07.2019 **Accepted:** 26.07.2019 **Published online:** 20.08.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.053

По данным ВОЗ, частота встречаемости остеоартроза (ОА) в настоящее время составляет 11–13% населения мира. ОА поражает как пожилых людей, для которых он является одной из основных причин инвалидности, так и лиц трудоспособного возраста [1–4]. Заболевание характеризуется хронической болью, деструкцией и потерей суставного хряща,

ремоделированием субхондральной кости, образованием остеофитов, воспалением синовиальной оболочки различной степени, вовлечением в патологический процесс как внутрисуставных, так и параартикулярных структур [5].

Долгое время доминирующую роль в развитии ОА отводили суставному хрящу, однако в последнее десятилетие

растет интерес к роли субхондральной кости (СК): с точки зрения как этиопатогенеза, так и клинического значения [6]. Доказано, что ремоделирование СК представляет собой важный процесс в патогенезе ОА [7]. Изменения в ней могут развиваться первично, в качестве пускового механизма ОА, или вторично, в результате нарастания дегенеративно-дистрофических процессов [8–10].

Важным признаком патологических изменений СК при ОА служит отек костного мозга (ОКМ), определяемый на магнитно-резонансной томограмме (МРТ). Этот термин был впервые применен в 1988 г., и его все чаще используют для описания патологического МР-сигнала, определяемого при ОА [11, 12]. ОКМ обнаруживают обычно в зоне склероза СК, его сопровождают увеличение доли объема костной ткани и уплотнение трабекулярного слоя [13]. При прогрессировании ОА зона ОКМ нередко увеличивается, что считают важным фактором риска для дальнейшего прогрессирования деструкции суставных структур [2, 14, 15]. Показано, что ОКМ и деформация сустава могут быть предикторами быстрого прогрессирования ОА [4]. Более того, очаговые повреждения хряща часто находятся в непосредственной близости к ОКМ, и степень деструкции хрящевой ткани коррелирует с ростом интенсивности МР-сигнала [16, 17]. Ряд исследователей считают ОКМ одной из причин развития выраженного болевого синдрома. У пациентов с ОА, предъявлявших жалобы на сильные боли в области пораженного сустава, ОКМ с площадью на МРТ более 1 см<sup>2</sup> встречался значительно чаще, чем в тех случаях, когда симптомы были не столь выражены [14, 18]. У больных, имеющих ОКМ, отмечали значимое прогрессирование деструкции хряща и появление болевого синдрома [19]. Таким образом, ОКМ можно считать предиктором начала дегенерации хряща и появления боли еще до манифестации всех типичных клинических признаков ОА. В то же время ряд авторов считает, что ОКМ может ассоциироваться не только с ОА, но и с остеонекрозом, сопровождающимся болями в покое [20, 21].

Несмотря на то что влиянию ОКМ на течение ОА уделяют в последнее время много внимания, единого мнения относительно роли ОКМ еще не сформировано. Особенно много вопросов остается в отношении возможности воздействия на патологический субхондральный очаг в процессе комплексного лечения ОА. Важность изменений СК стала более очевидной, когда пришло понимание связи между ней и суставным хрящом. Эта связь получила название остеохондральной функциональной единицы. Было показано, что ОКМ тесно связан с прогрессированием дегенерации внутрисуставных структур и усилением боли в суставе. Таким образом, увеличение ОКМ повышает вероятность эндопротезирования в качестве оптимальной лечебной тактики [22, 23].

Генетический и гистологический анализ трепанобиоптатов зоны показал, что боль линейно коррелирует не только с прогрессированием ОА, но и с изменениями в микросреде субхондрального ОКМ [24]. В зонах ОКМ отмечена высокая метаболическая активность с экспрессией генов, участвующих в воспалительных процессах [24]. Предполагают, что ОКМ представляет собой локальную область высокого костного метаболизма с повышенным накоплением цитокинов и ангиогенных факторов, приводящих к росту новых сосудов и нервных окончаний в этой области [25].

Известен метод субхондропластики, применяемый для лечения костно-хрящевой патологии суставов при остеоартрозе, когда в пораженную субхондральную кость

вводят фосфат кальция под артроскопическим контролем. Эффективность этой процедуры была показана на примере лечения 133 пациентов с гонартрозом в сочетании с ОКМ, хотя через 2,5 года после выполненной субхондропластики 25% пациентов не отметили улучшения и согласились на эндопротезирование сустава [23]. Хороший эффект субхондропластики показан и в другом исследовании, где 70% из 164 пациентов с гонартрозом с показаниями к эндопротезированию после проведенного лечения отметили такое улучшение, что отказались от эндопротезирования [26].

Все большее распространение получает группа методик, основанных на внутрикостном введении обогащенной тромбоцитами аутоплазмы [27–29]. Продолжается изучение механизмов, обуславливающих хорошие клинические результаты при инъекционном введении аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы (PRP), однако уже сейчас общепризнанны противовоспалительный и регенераторный эффекты такой терапии. В связи с этим попытка создания методики лечения ОА, основанной на введении в очаг отека костного мозга PRP, представляется перспективной.

Целью исследования была разработка терапевтического подхода к лечению ОКМ при ОА коленного сустава путем локального внутрикостного введения в зону отека аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовали 17 пациентов (41,7 ± 14,3 лет), 15 из них с ОА коленного сустава II–IV ст. по классификации Kellgren–Lawrence, у которых, по данным МРТ, была обнаружена зона локального воспаления в виде ОКМ с преимущественным поражением медиальных отделов коленного сустава [30]. Критерии включения: пациенты обоих полов в возрасте от 40 до 80 лет; преобладание артроза коленного сустава; боль в суставах выше 3 баллов по ВАШ; рентгенологические степени тяжести 2 и 4 по классификации I. Kellgren и I. Lawrence с отеком костного мозга в субхондральной зоне; индекс массы тела — 20–33; возможность для наблюдений во время всего периода исследования; психическая адекватность, способность и готовность к сотрудничеству и выполнению рекомендаций врача. Критерии исключения: двусторонний артроз коленных суставов с синовитом; индекс массы тела > 33; полиартрит; тяжелая деформация конечности (варусное искривление диафиза более 4 °С и вальгусное — более 16 °С); артроскопия менее года до начала лечения; внутрисуставное введение гиалуроновой кислоты в течение последних 6 месяцев; системные аутоиммунные заболевания; плохо контролируемый сахарный диабет (гликозилированный гемоглобин выше 9%); заболевания крови (коагулопатии, анемия с НВ < 90); проведение иммуносупрессивной терапии, введение варфарина или других антикоагулянтов; лечение кортикостероидами в течение 6 месяцев до включения в исследование; отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании; выявление объективных противопоказаний к операции; отсутствие возможности динамического наблюдения и контроля в течение установленного срока.

Длительность заболевания составила от 1 до 9 лет (5,2 ± 4,5). Диагноз ОА устанавливали на основании жалоб, данных анамнеза и клинко-рентгенологического обследования. Всем пациентам выполнена рентгенография коленного сустава в двух проекциях: передне-задней и боковой, при сгибании голени под углом 30 °С (табл. 1).

У всех пациентов оценивали состояние субхондральной зоны и ОКМ по данным МРТ. Для описания отека костного мозга использовали международную классификацию WORMS (Whole Organ Magnetic Resonance Imaging Score), основанную на увеличении интенсивности сигнала T2 в последовательности изображений [2]. Оценку проводили по балльной шкале, измеряя максимальный диаметр очага отека на срезе МРТ с помощью программы RadiAnt DICOM Viewer 4.6.9 (64-bit) (Medixant; Франция). Критерии диагноза представлены в табл. 2. На рис. 1 и 2 представлены примеры томограмм пациентов с тяжелым ОКМ.

У всех пациентов при поступлении оценивали выраженность болевого синдрома по ВАШ, а также определяли сумму баллов по функциональным шкалам-опросникам WOMAC и KOOS [31–33]. Эти же параметры определяли и далее, в ходе динамического наблюдения через 1 и 3 месяца.

### Подготовка препарата PRP и описание метода

По методике Regenlab по технологии REGEN ACR (Regen Lab SA; Швейцария) получали препарат, который определенное время сохраняется после внутрикостного введения: 30 мл аутологичной венозной крови распределяли по трем пробиркам — две пробирки REGEN BCT (для получения аутологичной богатой тромбоцитами плазмы) и одну пробирку REGEN ATS (для получения аутологичной тромбоиновой сыворотки, которую используют для активации препарата) (шаг 1). Все пробирки центрифугировали в течение 5 мин со скоростью 3100 об./мин. (шаг 2). Затем в стерильных условиях из REGEN BCT в шприц набирали PRP, и из REGEN ATS — аутологичную тромбоиновую сыворотку в соотношении 10 : 1 (шаг 3) (рис. 2). Внутрикостное введение обогащенной тромбоцитами плазмы осуществляли в зону ОКМ, определенную ранее с помощью МРТ в режиме T2: в медиальный или латеральный мыщелки бедренной или большеберцовой кости. Манипуляцию проводили в стандартном положении пациента лежа на спине на операционном столе, под внутривенной анестезией (шаг 4) (рис. 2).

Таблица 1. Характеристика пациентов

Пол (количество пациентов)	Женский	10 (58,8%)
	Мужской	7 (41,2%)
Средний возраст (лет)		41,7 ± 14,3
Длительность поражения коленного сустава (лет)		5,2 ± 4,5
Средний срок наблюдения (месяцев)		5,5 ± 2,5
Пораженный сустав (количество)	Односторонний	17 (100%)
Рентгенологическая стадия по шкале Kellgren–Lawrence	I	0
	II	5 (29,4%)
	III	10 (58,8%)
	IV	2 (11,8%)

Таблица 2. Критерии диагноза по шкале WORMS

Степень ОКМ	Диаметр очага (мм)	Баллы по шкале WORMS
Отсутствие		0
Минимально выраженный	< 5	1
Умеренно выраженный	5–20	2
Тяжелый	> 20	3

Для введения препарата использовали стилет с четырехгранным мандреном 13 (Stryker; США), под контролем электронно-оптического преобразователя (ЭОП). После достижения иглой патологического очага в него плавно вводили 5 мл изготовленного препарата (рис. 3).

В ближайшем периоде после введения препарата всем пациентам рекомендовали: местное применение холодных компрессов; ограничение нагрузки до 1 недели; ограничение повышенной нагрузки до 2 недель; при возникновении болей — перорально парацетамол до 4 г/сут. Селективные нестероидные противовоспалительные препараты не использовали.

Статистическую обработку полученных данных выполняли при помощи STATISTICA 13.3 (StatSoft; США).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По данным МРТ, минимально выраженный ОКМ выявлен у 2 пациентов, умеренно выраженный — у 7, тяжелый — у 8 (рис. 4).

После введения PRP в динамике отмечали значимое снижение болевого синдрома по шкале ВАШ. Перед началом лечения пациенты определяли боль как «сильную» ( $51,4 \pm 6,9$  баллов), через месяц боль снизилась на 36,4 балла, перейдя в диапазон «незначительной» ( $15,0 \pm 8,3$ ,  $p < 0,01$ ), а через 3 месяца показатель ВАШ составил  $18,3 \pm 11,6$  баллов ( $p < 0,01$ ), что также является показателем «незначительной» боли (рис. 5).

По шкале WOMAC также отмечено существенное улучшение показателей. Средняя сумма баллов при поступлении составила  $57,38 \pm 12,85$ , через месяц после введения препарата она была равна  $76,45 \pm 5,91$  балла ( $p < 0,01$ ), а через 3 месяца достигла  $75,33 \pm 8,41$  ( $p < 0,01$ ) (рис. 5).

Аналогичная динамика результатов была отмечена и по шкале KOOS: среднее значение при поступлении составило  $52,78 \pm 13,38$  балла, а через месяц после введения препарата —  $72,00 \pm 7,35$  балла ( $p < 0,01$ ), через 3 месяца достигло  $72,13 \pm 8,50$  балла ( $p < 0,01$ ) (рис. 5).

Поскольку шкала KOOS состоит из 5 разделов, оценивающих различные аспекты состояния коленного



сустава, представляет интерес их оценка по отдельности (табл. 3). По всем параметрам была отмечена достоверная положительная динамика относительно начала терапии. Следует отметить, что наиболее выраженное улучшение среднего показателя зафиксировано по разделам «спорт и отдых» (от  $25,83 \pm 21$  до  $53,33 \pm 28,86$ ) и «качество жизни» (от  $24,08 \pm 18,39$  до  $54,18 \pm 21,48$ ) к третьему месяцу. Болевой синдром уменьшался к первому месяцу, затем незначительно нарастал к третьему месяцу, но его значения все еще свидетельствовали о достоверном улучшении состояния.

Важно отметить, что по большинству разделов субшкалы KOOS, а также по шкалам WOMAC и ВАШ наилучшие показатели отмечены через месяц после введения препарата, а к 3 месяцам средние показатели немного ухудшились, хотя это различие не всегда было статистически значимым.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Разработанная нами методика внутрикостного введения препарата PRP в субхондральную зону является малоинвазивным доступным способом лечения гонартроза

с отеком костного мозга. Применяемый препарат PRP, изготовленный по технологии REGENACR, обладает пролонгированным лечебным действием. Ранее было показано, что при ОКМ образуется локальная область высокого костного метаболизма с повышенным накоплением цитокинов и ангиогенных факторов, что является по сути локальным воспалением [24, 25]. Положительная динамика состояния пациентов на фоне применения PRP поддерживает теорию о выраженном противовоспалительном эффекте местного применения обогащенной тромбоцитами плазмы. Несмотря на то что PRP содержит ангиогенные и пролиферативные факторы роста, не было зарегистрировано ни одного случая ухудшения клинического течения заболевания.

Наши данные во многом согласуются с данными других авторов, применявших PRP внутрикостно в лечении гонартроза [27–29]. У 14 пациентов с тяжелым гонартрозом при трехкратном применении внутрисуставных инъекций (8 мл PRP) в сочетании с субхондральными внутрикостными инъекциями (5 мл PRP) в медиальный мыщелок большеберцовой кости и медиальный мыщелок бедра через 6 месяцев, как и в нашей работе, получено

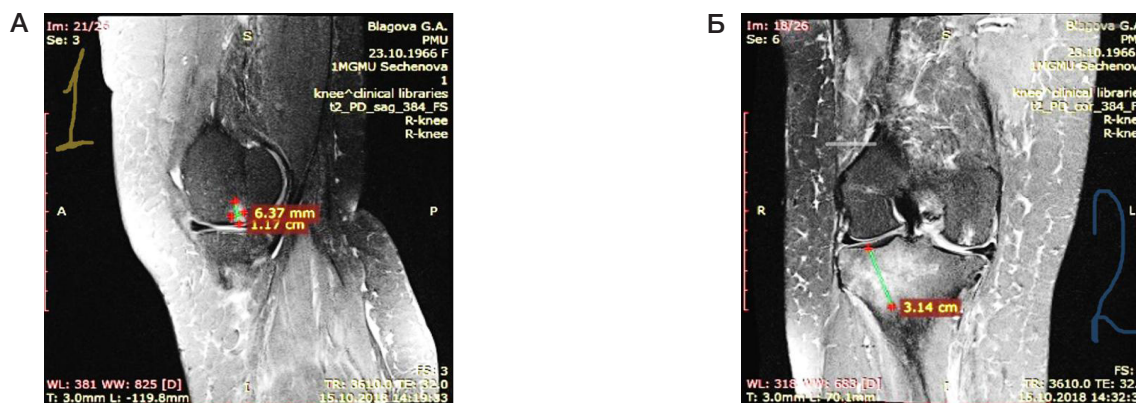


Рис. 1. Оценка размеров ОКМ по классификации WORMS с помощью программы RadiAnt DICOM Viewer 4.6.9 (64-bit). А. ОКМ в латеральном мыщелке бедренной кости размером 1,17 см. Б. ОКМ в медиальном мыщелке большеберцовой кости размером 3,14 см

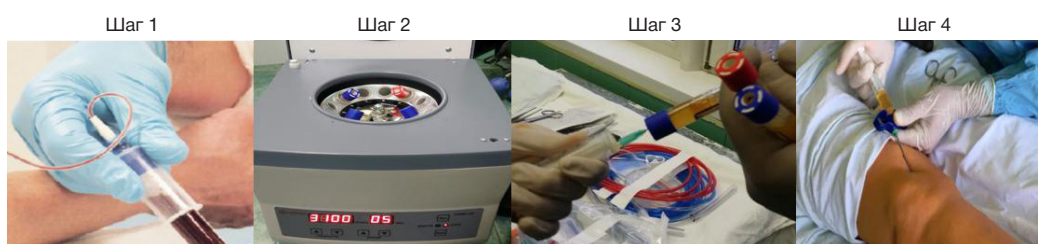


Рис. 2. Подготовка препарата PRP. Шаг 1: забор крови. Шаг 2: центрифугирование. Шаг 3: смешивание препарата в пропорции 10 : 1. Шаг 4: использование готового препарата



Рис. 3. Введение препарата PRP в зону ОКМ в медиальный мыщелок бедренной кости под контролем ЭОП. На снимке инъекционная игла находится во внутреннем мыщелке бедренной кости

статистически значимое снижение боли и других показателей по шкале KOOS [29]. В нашем случае препарат вводили внутрикостно один раз, при этом клиническое улучшение было отмечено на 3 месяца раньше.

Тем не менее необходимо признать, что к 3 месяцам после внутрикостного введения препарата достигнутый эффект снижается, хотя сохраняется достоверное улучшение результатов клинических тестов.

Наиболее выраженное улучшение среднего показателя по шкале KOOS в разделах «спорт и отдых» и «качество жизни», по-видимому, обусловлено эмоциональной составляющей пациентов, почувствовавших положительный эффект

от проведенного лечения, и требует дополнительных способов оценки.

## ВЫВОДЫ

При остеоартрозе II–IV ст. по классификации Kellgren–Lawrence в субхондральной зоне на МРТ-исследовании выявляют очаги ОКМ, являющиеся одним из звеньев патогенеза заболевания, способствующие его дальнейшему прогрессированию и поддерживающие болевой синдром. Введение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы в очаг ОКМ оказывает выраженный и стойкий

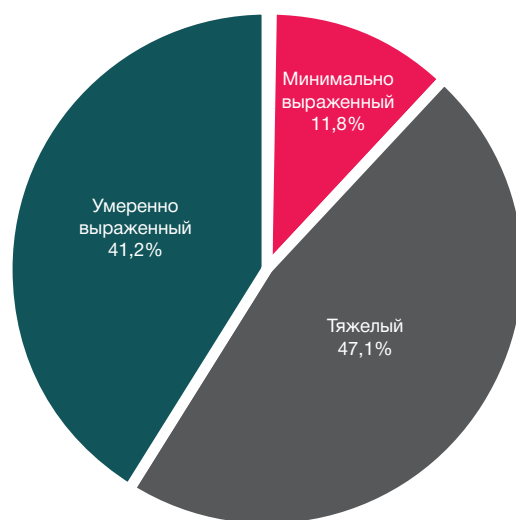


Рис. 4. Распределение пациентов по степени выраженности ОКМ по классификации WORMS

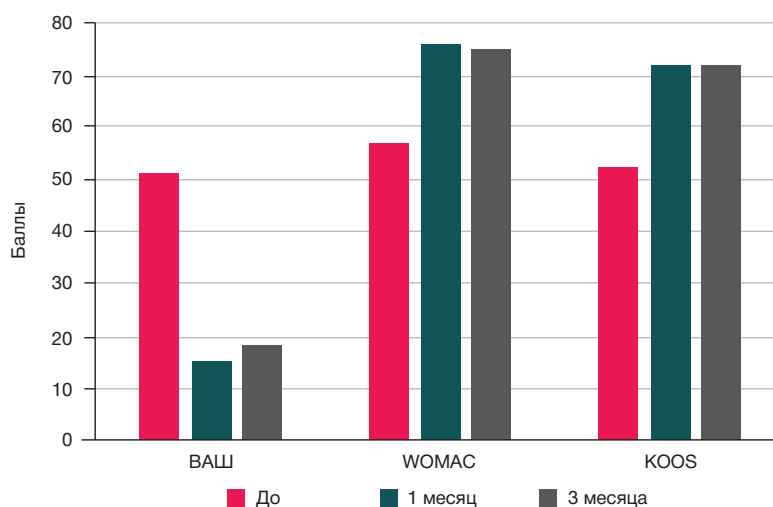


Рис. 5. Динамика средних показателей по шкалам ВАШ, WOMAC и KOOS. В исследовании 17 пациентам с остеоартрозом коленного сустава была введена PRP в зоне ОКМ. Состояние оценивали до начала терапии, а также через 1 и 3 месяца после проведенного лечения

Таблица 3. Оценка результатов функционального состояния по субшкалам KOOS

	До	1 месяц после операции	3 месяца после операции
Симптомы	62,85 ± 10,28	74,28 ± 10,53*	71,43 ± 6,18*
Боль	53,70 ± 7,18	74,40 ± 11,87*	70,36 ± 12,52*
Активность	53,36 ± 15,41	73,04 ± 10,21	74,51 ± 4,24*
Спорт и отдых	25,83 ± 21	58,33 ± 19,66 *	53,33 ± 28,86 *
Качество жизни	24,08 ± 18,39	40,62 ± 23,30 *	54,18 ± 21,48*
Итоговый индекс	52,78 ± 13,38	72,00 ± 7,35*	72,13 ± 8,50*

Примечание: \* — статистически значимое изменение параметра по сравнению с исходными данными ( $p < 0,01$ ).

положительный эффект в виде существенного снижения боли и улучшения функции пораженного сустава, который сохраняется как минимум до 3 месяцев.

Дальнейшее изучение метода лечения пациентов с ОКМ при гонартрозе, основанного на использовании

обогащенной тромбоцитами аутоплазмы, является важной перспективной задачей современной ортопедии ввиду положительной динамики состояния пациентов и полученных данных о важности остеохондральной функциональной единицы в патологическом процессе.

## Литература

1. Felson DT, McLaughlin S, Goggins J, LaValley MP, Gale ME, Totterman S, et al. Bone marrow edema and its relation to progression of knee osteoarthritis. *Ann Intern Med.* 2003; (139): 330–6.
2. Kazakia GJ, Kuo D, Schooler J, Siddiqui S, Shambhag S, Bernstein G et al. *Arthritis Research & Therapy.* 2013; (15): 11–2.
3. Meizer R, Radda C, Stolz G, Kotsaris S, Petje G, Krasny C, et al. MRI-controlled analysis of 104 patients with painful bone marrow edema in different joint localizations treated with the prostacyclin analogue iloprost. *Wien Klin Wochenschr.* 2005; (117): 278–86.
4. Зайцева Е. М. Оценка минеральной плотности костной ткани субхондральных отделов бедренной и большеберцовой костей при гонартрозе. *Научно-практическая ревматология.* 2005; (1): 27–30.
5. Felson DT. An update on the pathogenesis and epidemiology of osteoarthritis. *Radiol Clin North Am.* 2004; (42): 1–9.
6. Алексеева Л. И., Зайцева Е. М. Роль субхондральной кости при остеоартрозе. *НИИ ревматологии РАМН. Научно-практическая ревматология.* М., 2009; (4): 43–8.
7. Delgado D, Garate A, Vincent H, Bilbao AM, Patel R, Fiz N, et al. Current concepts in intraosseous Platelet-Rich Plasma injections for knee osteoarthritis. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma.* 2019; (10): 36–4.
8. Roemer FW, Frobell R, Hunter DJ, Crema MD, Fischer W, Bohnndorf K, et al. MRI-detected subchondral bone marrow signal alterations of the knee joint: terminology, imaging appearance, relevance and radiological differential diagnosis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009; (17): 1115–31.
9. Roemer FW, Neogix T, Nevitt MC, Felson DT, Zhux Y, Zhang Y, et al. Subchondral bone marrow lesions are highly associated with and predict subchondral bone attrition longitudinally. *The MOST study Osteoarthritis and Cartilage.* 2010; (18): 47–53.
10. Sowers MF, Hayes C, Jamadar D, Capul D, Lachance L, Jannausch M, et al. Magnetic resonance-detected subchondral bone marrow and cartilage defect characteristics associated with pain and X-ray-defined knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2003; (6): 387–393.
11. Wilson AJ, Murphy WA, Hardy DC, Totty WG. Transient osteoporosis: transient bone marrow edema? *Radiology.* 1988; (167): 757–760.
12. Lecouvet FE, van de Berg BC, Maldague BE, Lebon CJ, Jamart J, Saleh M, et al. Early irreversible osteonecrosis versus transient lesions of the femoral condyles: prognostic value of subchondral bone and marrow changes on MR imaging. *AJR Am J Roentgenol.* 1998; (170): 71–7.
13. Hunter DJ, Gerstenfeld L, Bishop G, Davis AD, Mason ZD, Einhorn TA, et al. Bone marrow lesions from osteoarthritis knees are characterized by sclerotic bone that is less well mineralized. *Arthritis Res Ther.* 2009; (11): 11.
14. Manicourt DH, Brasseur JP, Boutsen Y, Depreseux G, Devogelaer JP. Role of alendronate in therapy for posttraumatic complex regional pain syndrome type I of the lower extremity. *Arthritis Rheum.* 2004; (50): 3690–97.
15. Pelletier JP, Raynaud JP, Berthiaume MJ, Abram F, Choquette D, Haraoui B, et al. Risk factors associated with the loss of cartilage volume on weight-bearing areas in knee osteoarthritis patients assessed by quantitative magnetic resonance imaging: a longitudinal study. *Arthritis Research and Therapy.* 2007; (4): 74.
16. Zhao J, Li X, Bolbos RI, Link TM, Majumdar S. Longitudinal assessment of bone marrow edema-like lesions and cartilage degeneration in osteoarthritis using 3 T MR T1rho quantification. *Skeletal Radiol.* 2010; (39): 523–31.
17. Carrino JA, Blum J, Parellada JA, Schweitzer ME, Morrison WB. MRI of bone marrow edema-like signal in the pathogenesis of subchondral cysts. *Osteoarthritis Cartilage.* 2006; (14): 1081–15.
18. Peterfy CG, Guermazi A, Zaim S, Tirman PF, Miaux Y, White D, et al. Whole-Organ Magnetic Resonance Imaging Score (WORMS) of the knee in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2004; 12 (3): 177–90.
19. Wluka AE, Hanna F, Davies-Tuck M, Wang Y, Bell RJ, Davis SR, et al. Bone marrow lesions predict increase in knee cartilage defects and loss of cartilage volume in middle-aged women without knee pain over 2 years. *Ann Rheum Dis.* 2009; (68): 850–5.
20. Iida S, et al. Correlation between bone marrow edema and collapse of the femoral head in steroid-induced osteonecrosis. *AJR. American Journal of Roentgenology.* 2000; 174 (3): 735–43.
21. Ito H, Matsuno T, Minami A. Relationship between bone marrow edema and development of symptoms in patients with osteonecrosis of the femoral head. *AJR. American Journal of Roentgenology.* 2006; 186 (6): 1761–70.
22. Perry T, O'Neill T, Parkes M, Felson DT, Hodgson R, Arden NK. Bone marrow lesion type and pain in knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2018; (77): 1145.
23. Tanamas SK, Wluka AE, Pelletier JP, Pelletier JM, Abram F, Berry PA, et al. Bone marrow lesions in people with knee osteoarthritis predict progression of disease and joint replacement. *A longitudinal study Rheumatology.* 2010; (49): 2413–19.
24. Berger CE, Kroner AH, Minai-Pour MB, Ogris E, Engel A. Biochemical markers of bone metabolism in bone marrow edema syndrome of the hip. *Bone.* 2003; (33): 346–51.
25. Kuttapitiya A, Assi L, Laing K, Hing C, Mitchell P, Whitley G, et al. Microarray analysis of bone marrow lesions in osteoarthritis demonstrates upregulation of genes implicated in osteochondral turnover, neurogenesis and inflammation. *Ann Rheum Dis.* 2017; 76 (10): 1764–73.
26. Astur DC, de Freitas EV, Cabral PB, Morais CC, Pavei BS, Kaleka CC, et al. Evaluation and management of subchondral calcium phosphate injection technique to treat bone marrow lesion. *Cartilage.* 2018; (10): 1177.
27. Su K, Bai Y, Wang J, Zhang H, Liu H, Ma S. Comparison of hyaluronic acid and PRP intra-articular injection with combined intra-articular and intraosseous PRP injections to treat patients with knee osteoarthritis. 2018; (37): 1341–50.
28. Fiz N, Pérez JC, Guadilla J, Garate A, Sánchez P, Padilla S, et al. Intraosseous Infiltration of Platelet-Rich Plasma for Severe Hip Osteoarthritis. 2017; 19 (6): 821–5.
29. Sánchez M, Anitua E, Delgado D, Sanchez P, Prado R, Goiriena JJ, et al. A new strategy to tackle severe knee osteoarthritis: Combination of intra-articular and intraosseous injections of Platelet Rich Plasma. *Expert Opinion on Biological Therapy.* 2016; (10): 15–7.
30. Kellgren JH, JeVrey M, Ball J. *Atlas of standard radiographs.* Vol 2. Oxford: Blackwell Scientific, 1963.
31. Roos E, Lohmander L. The Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS): from joint injury to osteoarthritis. *Health and Quality of Life Outcomes.* 2003; 1 (1): 64–72.
32. Marot V, Murgier J, Carozzo A, Reina N, Monaco E, Chiron P et al. Determination of normal KOOS and WOMAC values in a healthy population. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy.* 2018; 27 (2): 541–8.
33. Hawker G, Mian S, Kendzerska T, French M. Measures of adult pain: Visual Analog Scale for Pain (VAS Pain), Numeric Rating Scale for Pain (NRS Pain), McGill Pain Questionnaire (MPQ), Short-Form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ), Chronic Pain Grade Scale (CPGS), Short Form-36 Bodily Pain Scale (SF. *Arthritis Care & Research.* 2011; 63 (S11): S240–52.

## References

1. Felson DT, McLaughlin S, Goggins J, LaValley MP, Gale ME, Totterman S, et al. Bone marrow edema and its relation to progression of knee osteoarthritis. *Ann Intern Med.* 2003; (139): 330–6.
2. Kazakia GJ, Kuo D, Schooler J, Siddiqui S, Shanbhag S, Bernstein G et al. *Arthritis Research & Therapy.* 2013; (15): 11–2.
3. Meizer R, Radda C, Stolz G, Kotsaris S, Petje G, Krasny C, et al. MRI-controlled analysis of 104 patients with painful bone marrow edema in different joint localizations treated with the prostacyclin analogue iloprost. *Wien Klin Wochenschr.* 2005; (117): 278–86.
4. Zajceva EM, Smirnov AV, Alekseeva I. Ocenka mineral'noj plotnosti kostnoj tkani subhondral'nyh odelov bedrennoj i bol'shebercovoj kostej pri gonartroze. *Nauchno-prakticheskaja revmatologija.* 2005; (1): 27–30.
5. Felson DT. An update on the pathogenesis and epidemiology of osteoarthritis. *Radiol Clin North Am.* 2004; (42): 1–9.
6. Alekseeva LI, Zajceva EM. Rol' subhondral'noj kosti pri osteoartroze. *NII revmatologii RAMN, Moskva. Nauchno-prakticheskaja revmatologija.* 2009; (4): 43–8.
7. Delgado D, Garate A, Vincent H, Bilbao AM, Patel R, Fiz N, et al. Current concepts in intraosseous Platelet-Rich Plasma injections for knee osteoarthritis. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma.* 2019; (10): 36–4.
8. Roemer FW, Frobell R, Hunter DJ, Crema MD, Fischer W, Bohndorf K, et al. MRI-detected subchondral bone marrow signal alterations of the knee joint: terminology, imaging appearance, relevance and radiological differential diagnosis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009; (17): 1115–31.
9. Roemer FW, Neogix T, Nevitt MC, Felson DT, Zhux Y, Zhang X, et al. Subchondral bone marrow lesions are highly associated with and predict subchondral bone attrition longitudinally. the MOST study *Osteoarthritis and Cartilage.* 2010; (18): 47–53.
10. Sowers MF, Hayes C, Jamadar D, Capul D, Lachance L, Jannausch M, et al. Magnetic resonance-detected subchondral bone marrow and cartilage defect characteristics associated with pain and X-ray-defined knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2003; (6): 387–393.
11. Wilson AJ, Murphy WA, Hardy DC, Totty WG. Transient osteoporosis: transient bone marrow edema? *Radiology.* 1988; (167): 757–760.
12. Lecouvet FE, van de Berg BC, Maldague BE, Lebon CJ, Jamart J, Saleh M, et al. Early irreversible osteonecrosis versus transient lesions of the femoral condyles: prognostic value of subchondral bone and marrow changes on MR imaging. *AJR Am J Roentgenol.* 1998; (170): 71–7.
13. Hunter DJ, Gerstenfeld L, Bishop G, Davis AD, Mason ZD, Einhorn TA, et al. Bone marrow lesions from osteoarthritis knees are characterized by sclerotic bone that is less well mineralized. *Arthritis Res Ther.* 2009; (11): 11.
14. Manicourt DH, Brasseur JP, Boutsen Y, Depreseux G, Devogelaer JP. Role of alendronate in therapy for posttraumatic complex regional pain syndrome type I of the lower extremity. *Arthritis Rheum.* 2004; (50): 3690–97.
15. Pelletier JP, Raynaud JP, Berthiaume MJ, Abram F, Choquette D, Haraoui B, et al. Risk factors associated with the loss of cartilage volume on weight-bearing areas in knee osteoarthritis patients assessed by quantitative magnetic resonance imaging: a longitudinal study. *Arthritis Research and Therapy.* 2007; (4): 74.
16. Zhao J, Li X, Bolbos RI, Link TM, Majumdar S. Longitudinal assessment of bone marrow edema-like lesions and cartilage degeneration in osteoarthritis using 3 T MR T1rho quantification. *Skeletal Radiol.* 2010; (39): 523–31.
17. Carrino JA, Blum J, Parellada JA, Schweitzer ME, Morrison WB. MRI of bone marrow edema-like signal in the pathogenesis of subchondral cysts. *Osteoarthritis Cartilage.* 2006; (14): 1081–15.
18. Peterfy CG, Guermazi A, Zaim S, Tirman PF, Mieux Y, White D, et al. Whole-Organ Magnetic Resonance Imaging Score (WORMS) of the knee in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2004; 12 (3): 177–90.
19. Wluka AE, Hanna F, Davies-Tuck M, Wang Y, Bell RJ, Davis SR, et al. Bone marrow lesions predict increase in knee cartilage defects and loss of cartilage volume in middle-aged women without knee pain over 2 years. *Ann Rheum Dis.* 2009; (68): 850–5.
20. Iida S, et al. Correlation between bone marrow edema and collapse of the femoral head in steroid-induced osteonecrosis. *AJR. American Journal of Roentgenology.* 2000; 174 (3): 735–43.
21. Ito H, Matsuno T, Minami A. Relationship between bone marrow edema and development of symptoms in patients with osteonecrosis of the femoral head. *AJR. American Journal of Roentgenology.* 2006; 186 (6): 1761–70.
22. Perry T, O'Neill T, Parkes M, Felson DT, Hodgson R, Arden NK. Bone marrow lesion type and pain in knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2018; (77): 1145.
23. Tanamas SK, Wluka AE, Pelletier JP, Pelletier JM, Abram F, Berry PA, et al. Bone marrow lesions in people with knee osteoarthritis predict progression of disease and joint replacement. A longitudinal study *Rheumatology.* 2010; (49): 2413–19.
24. Berger CE, Kroner AH, Minai-Pour MB, Ogris E, Engel A. Biochemical markers of bone metabolism in bone marrow edema syndrome of the hip. *Bone.* 2003; (33): 346–51.
25. Kuttapitiya A, Assi L, Laing K, Hing C, Mitchell P, Whitley G, et al. Microarray analysis of bone marrow lesions in osteoarthritis demonstrates upregulation of genes implicated in osteochondral turnover, neurogenesis and inflammation. *Ann Rheum Dis.* 2017; 76 (10): 1764–73.
26. Astur DC, de Freitas EV, Cabral PB, Morais CC, Pavei BS, Kaleka CC, et al. Evaluation and management of subchondral calcium phosphate injection technique to treat bone marrow lesion *Cartilage.* 2018; (10): 1177.
27. Su K, Bai Y, Wang J, Zhang H, Liu H, Ma S. Comparison of hyaluronic acid and PRP intra-articular injection with combined intra-articular and intraosseous PRP injections to treat patients with knee osteoarthritis. 2018; (37): 1341–50.
28. Fiz N, Pérez JC, Guadilla J, Garate A, Sánchez P, Padilla S, et al. Intraosseous Infiltration of Platelet-Rich Plasma for Severe Hip Osteoarthritis. 2017; 19 (6): 821–5.
29. Sánchez M, Anitua E, Delgado D, Sanchez P, Prado R, Goiriena JJ, et al. A new strategy to tackle severe knee osteoarthritis: Combination of intra-articular and intraosseous injections of Platelet Rich Plasma. *Expert Opinion on Biological Therapy.* 2016; (10): 15–7.
30. Kellgren JH, JeVrey M, Ball J. Atlas of standard radiographs. Vol 2. Oxford: Blackwell Scientific, 1963.
31. Roos E, Lohmander L. The Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS): from joint injury to osteoarthritis. *Health and Quality of Life Outcomes.* 2003; 1 (1): 64–72.
32. Marot V, Murgier J, Carrozzo A, Reina N, Monaco E, Chiron P et al. Determination of normal KOOS and WOMAC values in a healthy population. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy.* 2018; 27 (2): 541–8.
33. Hawker G, Mian S, Kendzerska T, French M. Measures of adult pain: Visual Analog Scale for Pain (VAS Pain), Numeric Rating Scale for Pain (NRS Pain), McGill Pain Questionnaire (MPQ), Short-Form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ), Chronic Pain Grade Scale (CPGS), Short Form-36 Bodily Pain Scale (SF. *Arthritis Care & Research.* 2011; 63 (S11): S240–52.



## ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ КУЛЬТУРАЛЬНОГО, МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО И МОЛЕКУЛЯРНОГО МЕТОДОВ В ИССЛЕДОВАНИИ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ У ДЕТЕЙ

Б. А. Ефимов , А. В. Чаплин, С. Р. Соколова, З. А. Черная, А. П. Пикина, А. М. Савилова, Л. И. Кафарская

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

В последние десятилетия основными методами оценки состава микробиоты стали технологии секвенирования нуклеиновых кислот, используемые для метагеномного анализа. В то же время внедрение в практику микробиологических исследований новых методов культивирования и идентификации микроорганизмов привело к ренессансу культуральных технологий, поскольку позволило решить задачи по поиску и выделению новых штаммов как уже известных микроорганизмов, так и ранее некультивируемых и неизученных бактериальных таксонов. Целью работы было оценить потенциал использования культурального метода для оценки качественного и количественного состава кишечной микробиоты здоровых детей. Анализ состава доминирующих групп анаэробных бактерий, а также аэробных бактерий и грибов у 20 здоровых детей в возрасте 2–4 лет проводили путем посева серийных разведений фекалий на 11 питательных сред. Для идентификации микроорганизмов использовали метод MALDI TOF MS и секвенирование фрагмента гена 16S рРНК. Идентификация 1819 выделенных штаммов микроорганизмов показала, что они принадлежали к 7 типам, 13 классам, 18 порядкам, 33 семействам, 77 родам и 149 видам домена бактерий. По количеству и частоте встречаемости доминировали бактерии типов *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. Наибольшее видовое разнообразие (более 85 видов) обнаружено среди бактерий типа *Firmicutes*. Выделено 10 штаммов новых, пока не охарактеризованных бактериальных видов.

**Ключевые слова:** микробиота кишечника, дети, выделение бактерий, биоразнообразие, микробиологические методы, секвенирование ДНК, масс-спектрометрия, MALDI TOF MS

**Финансирование:** работа поддержана грантом Российского научного фонда (№ 17-15-01488).

**Информация о вкладе авторов:** Б. А. Ефимов — планирование исследования, анализ литературы, отбор обследуемых детей, сбор биоматериала, микробиологическое исследование, спектрометрическое исследование, анализ и интерпретация данных, подготовка черновика рукописи; А. В. Чаплин — планирование исследования, анализ литературы, выделение бактериальной ДНК, проведение ПЦР, очистка ампликонов для секвенирования, анализ и интерпретация данных, подготовка черновика рукописи; С. Р. Соколова — планирование исследования, анализ литературы, сбор биоматериала, микробиологическое исследование, выделение бактериальной ДНК, проведение ПЦР, очистка ампликонов для секвенирования, анализ и интерпретация данных, подготовка черновика рукописи; З. А. Черная — планирование исследования, анализ литературы, микробиологическое исследование, спектрометрическое исследование, анализ и интерпретация данных, подготовка черновика рукописи; А. М. Савилова — анализ литературы, микробиологическое исследование, подготовка черновика рукописи; Л. И. Кафарская — планирование исследования, анализ литературы, отбор обследуемых детей, микробиологическое исследование, анализ и интерпретация данных, подготовка черновика рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование было одобрено этическим комитетом РНИМУ имени Н. И. Пирогова (протокол № 165 от 22 мая 2017 г.). Родители каждого ребенка подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

 **Для корреспонденции:** Борис Алексеевич Ефимов  
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997; efimov\_ba@mail.ru

**Статья получена:** 27.06.2019 **Статья принята к печати:** 12.07.2019 **Опубликована онлайн:** 09.08.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.048

## APPLICATION OF CULTURE-BASED, MASS SPECTROMETRY AND MOLECULAR METHODS TO THE STUDY OF GUT MICROBIOTA IN CHILDREN

Efimov BA , Chaplin AV, Sokolova SR, Chernaya ZA, Pikina AP, Savilova AM, Kafarskaya LI

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia


In recent decades, nucleic acid sequencing technologies used for metagenomic analysis have become the main methods for assessing the composition of microbiota. At the same time, the use of novel methods of cultivation and identification of microorganisms in microbiological research led to the renaissance of culture-based technologies, because facilitated the discovery and isolation of both new strains of well-known microorganisms as well as uncultivated and unexplored bacterial taxa. The aim of this study was to evaluate the potential of using the culture-based method for the assessment of the qualitative and quantitative composition of the intestinal microbiota in healthy children. Eleven growth media were inoculated with serial dilutions of stool samples in order to analyze the profile of dominant anaerobic bacteria, as well as aerobic bacteria and fungi in 20 healthy children aged 2–4 years. The identification of microorganisms was performed using MALDI TOF MS and 16S rRNA gene fragment sequencing were used. 1,819 isolated and identified strains belong to 7 phyla, 13 classes, 18 orders, 33 families, 77 genera and 149 species in the *Bacteria* domain. The *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* and *Proteobacteria* phyla were most abundant and frequent. The greatest species diversity (more than 85 species) was found in the *Firmicutes* phylum. Ten new previously uncharacterized bacterial strains were isolated.

**Keywords:** gastrointestinal tract microbiota, children, isolation and purification of bacteria, biodiversity, microbiological techniques/methods, DNA sequencing, mass spectrometry, Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization

**Funding:** the study was supported by Russian Science Foundation (research grant № 17-15-01488).

**Author contribution:** Efimov BA — research planning, literature analysis, screening children, specimen collection, microbiological research, mass spectrometry research, analysis and interpretation of data, preparing a draft manuscript; Chaplin AV — research planning, literature analysis, isolation of bacterial DNA, carrying out PCR, amplicons purification for sequencing, data analysis and interpretation, preparing a draft manuscript; Sokolova SR — research planning, literature analysis, specimen collection, microbiological research, isolation of bacterial DNA, carrying out PCR, amplicons purification for sequencing, data analysis and interpretation preparing a draft manuscript; Chernaya ZA — research planning, literature analysis, microbiological research, mass spectrometry research, data analysis and interpretation, preparing a draft manuscript; Pikina AP — research planning, literature analysis, microbiological research, mass spectrometry research, data analysis and interpretation, preparing a draft manuscript; Savilova AM — literature analysis, microbiological research, preparing a draft manuscript; Kafarskaya LI — research planning, literature analysis, screening children, microbiological research, analysis and interpretation of data, preparing a draft manuscript.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Pirogov Russian National Research Medical University (protocol № 165 of May 22, 2017). The parents of children participants signed a voluntary informed consent to participate in the study.

 **Correspondence should be addressed:** Boris A. Efimov  
Ostrovityanova 1, Moscow, 117997; efimov\_ba@mail.ru

**Received:** 27.06.2019 **Accepted:** 12.07.2019 **Published online:** 09.08.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.048

Большинство представителей микрофлоры кишечника человека и животных относят к трудно культивируемым или некультивируемым группам микроорганизмов, поэтому для оценки состава микробиоты в настоящее время преимущественно применяют технологии массового параллельного секвенирования молекул ДНК в исследуемом образце, например фрагментов генов, кодирующих 16S рРНК, или фрагментов геномной ДНК [1, 2]. Однако часто интерпретация получаемых данных вызывает затруднения, так как анализируемые нуклеотидные последовательности не всегда могут быть соотнесены с какими-либо известными бактериями или бактериофагами [3–5]. Эти подходы имеют и тот недостаток, что с их помощью с большей эффективностью можно охарактеризовать относительное соотношение доминирующих групп бактерий, в то время как точное численное содержание доминирующих или минорных по количеству (и не всегда по параметру качественного разнообразия и реализуемым функциям) таксонов остается за рамками таких исследований [6, 7]. Для более точного количественного определения бактерий применяют метод ПЦР в режиме реального времени с использованием видоспецифичных или группоспецифичных праймеров и последующей нормализацией полученных результатов на рекомбинантные плазмидные ДНК, содержащие клонированные участки амплифицируемых фрагментов генов [8]. Однако этот метод позволяет скорее определять общее количество копий амплифицируемых участков ДНК в исследуемом материале, а не число жизнеспособных бактериальных клеток. Кроме того, ввиду трудоемкости постановки метода, особенно в исследованиях, направленных на численное определение широкого спектра микроорганизмов, этот подход, в основном, используют для анализа состава крупных таксономических кластеров микроорганизмов (родов, семейств, групп), нежели отдельных известных видов. Таким образом, наряду с развитием технологий, основанных на секвенировании генетического материала микроорганизмов, по-прежнему актуально совершенствование методов их культивирования, поскольку оно позволяет решать задачи по поиску, выделению, определению численности и изучению биологических свойств новых штаммов уже известных бактерий, а также ранее не изученных таксонов [9].

Целью работы было оценить потенциал использования культурального метода для оценки качественного и количественного составов кишечной микробиоты здоровых детей путем посева образцов испражнений на часто используемые в лабораторной практике питательные среды, поддерживающие рост требовательных бактерий.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Изучение параметров микробной колонизации толстой кишки проводили у группы из 20 здоровых детей обоего пола, проживающих в г. Москва, 17 из которых регулярно посещали детские дошкольные учреждения, а трое детей находились на домашнем воспитании. Отбор детей проводили авторы исследования. Возраст обследуемых составил от 2 лет 11 месяцев до 4 лет 10 месяцев (средний возраст — 3 года 5 месяцев), из которых было 12 мальчиков и 8 девочек. Критерии включения: дети обоего пола; возраст детей от 2,5 до 4 лет; наличие согласия родителей на проведение исследования. Критерии исключения: дети иного возраста; наличие любого хронического заболевания, такого как сахарный диабет, бронхиальная астма, желудочно-

кишечные заболевания (целиакия, функциональный запор, синдром короткой кишки, или воспалительные заболевания кишечника); наличие пищевой аллергии или родительская убежденность в непереносимости лактозы у ребенка; выраженная избирательность в употреблении пищевых продуктов; применение антибиотиков, иммуномодулирующих, стероидных или пробиотических лекарственных препаратов в течение 6 месяцев до исследования; перенесенный за последние 6 месяцев до исследования инфекционный гастроэнтерит, подтвержденный лабораторными исследованиями; наличие перенесенных операций на желудочно-кишечном тракте.

Материалом для исследования служили фекалии детей, которые родители собирали стерильным шпателем и помещали в стерильный транспортный контейнер. Исследование проводили при условии, что количество помещенного в контейнер материала составляло не менее 15 г, и время его доставки в лабораторию не превышало 2 ч от момента забора. В лаборатории сразу после получения исследуемый материал гомогенизировали, готовили его десятикратные серийные разведения (от  $10^0$  до  $10^9$  раз) в пробирках со стерильной жидкой средой Schaedler Anaerobe Broth (Oxoid, Basingstoke; Великобритания) и высевали аликвоты в объеме 0,1 мл из соответствующих разведений на чашки Петри с питательными средами. Выделение строго анаэробных бактерий проводили на Schaedler Anaerobe Agar (Oxoid, Basingstoke; Великобритания) с добавлением 5% (v/v) дефибрированной бараньей крови, Anaerobe Basal Agar (Oxoid, Basingstoke; Великобритания) с добавлением бараньей крови, Columbia Agar (bioMérieux, Marcy l'Etoile; France) с добавлением бараньей крови. Посев на питательные среды проводили из разведений испражнений в  $10^7$ ,  $10^8$ , и  $10^9$  раз. Бифидобактерии и сульфатредуцирующие бактерии выделяли также на Bifidobacterium Agar (Himedia Labs Inc.; Индия) и Perfringens Agar Base (Himedia Labs Inc.; Индия) соответственно из разведений исследуемого материала в  $10^5$ ,  $10^7$  и  $10^8$  раз. Чашки Петри с посевами инкубировали в анаэроаппаратах (Schutt Labortechnik GmbH; Германия), заполненных газовой смесью (85%  $N_2$ , 10%  $H_2$ , 5%  $CO_2$ ), в присутствии платиновых катализаторов при 37 °C в течение 72 ч. Молочнокислые бактерии культивировали на среде Lactobacillus MRS Agar (Himedia Labs Inc.; Индия) из фекалий разведением в  $10^3$  и  $10^5$  раз, чашки инкубировали в анаэроаппаратах (GasPak; США) в атмосфере — 7%  $CO_2$  48 ч. Аэробные бактерии выделяли из разведений исследуемого материала в  $10^0$ ,  $10^3$ ,  $10^5$  и  $10^7$  раз на средах: Endo Agar (Becton Dickinson and Company, США), Salmonella–Shigella-Agar (bioMérieux Marcy l'Etoile; Франция), Gelatin Mannitol Salt Agar (Staphylococcus Agar # 110, Himedia Labs Inc.; Индия), m-Enterococcus Agar (Difco Laboratories, Franklin Lakes; США), Columbia Agar (bioMérieux, Marcy l'Etoile; Франция) с добавлением 5% (v/v) бараньей крови. Для выделения грибов использовали среду Sabouraud Chloramphenicol 2 Agar (bioMérieux, Marcy l'Etoile; Франция).

После инкубирования чашек с посевами при макроскопическом исследовании выросших колоний определяли их морфологические типы и проводили подсчет отдельно для каждого типа. Кроме того, материал из колоний выявленных типов подвергали микроскопическому исследованию после окраски по Граму и субкультивировали путем пересева на новые чашки Петри с той же средой и последующим инкубированием чашек в анаэробных или аэробных условиях с целью получения биомассы бактерий

для идентификации и консервации. Частично, выделенные штаммы микроорганизмов сохраняли путем лиофильного высушивания микробной суспензии после замораживания в растворе 10% сахарозы/1% желатины (w/v) в лиофильной сушке SB1 (Chemlab; Великобритания). Пробирики с лиофильно высушенными штаммами микроорганизмов хранили при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Первичную идентификацию бактерий и грибов проводили при помощи масс-спектрометрического метода MALDI TOF MS на приборе Vitek MS Plus (bioMérieux; Франция) и программы Saramis Premium v. 4.10 в соответствии с рекомендациями производителя оборудования [10, 11]. Штаммы бактерий, видовую принадлежность которых не удалось установить при помощи метода MALDI-TOF масс-спектрометрии, идентифицировали путем секвенирования фрагмента гена 16S рПНК [12, 13]. Кроме того, этот же метод использовали выборочно для подтверждения правильности видовой идентификации бактерий методом масс-спектрометрии. Путем полимеразной цепной реакции (ПЦР) осуществляли амплификацию участка гена 16S рПНК с использованием универсальных бактериальных праймеров 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') и 1492R (5'-ACGGYTACCTTGTACGACTT-3') в течение 35 циклов со следующей программой: денатурация — 20 с при  $94^{\circ}\text{C}$ ; отжиг праймеров — 20 с при  $58^{\circ}\text{C}$ ; элонгация — 90 с  $72^{\circ}\text{C}$ . Полученный ПЦР-продукт очищали с использованием набора Cleanup Standard («Евроген»; Россия). Секвенирование амплифицированного фрагмента ДНК по Сэнгеру с праймера UF1 проводили в компании «Евроген» (Москва, РФ). Определение границ отсечения последовательностей по качеству электрофореграммы осуществляли визуально с использованием программы Chromas Lite Chromas Lite, версия 2.6.6 (Technelysium Pty. Ltd.; Австралия). Видовую принадлежность бактерий устанавливали на основе поиска полученных нуклеотидных последовательностей в базе данных GenBank при помощи алгоритма Megablast. Результат сравнения считали соответствующим уровню вида в том случае, когда его частично секвенированная последовательность гена 16S рПНК имела сходство на уровне  $\geq 98,7\%$  с последовательностью ближайшего известного бактериального вида в базе данных GenBank [14].

Количество бактерий выражали в  $\log_{10}$  колониеобразующих единиц в 1 г исследуемого материала ( $\log_{10}$  КОЕ/г). КОЕ/г исследуемого материала было вычислено с использованием формулы:  $\text{КОЕ/г} = \text{число колоний соответствующего вида микроорганизмов, выросших на чашке (или среднее число колоний соответствующего вида микроорганизмов, в случаях, когда бактерии одного вида давали рост на разных средах или давали рост только на одной из использованных сред, но определялись более чем в одном разведении)} \times 10 \times \text{степень разведения}$ . Общее количество культивированных микроорганизмов на образец вычисляли путем сложения количественных значений отдельных видов.

Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Манна–Уитни и точного теста Фишера, поправку на множественные сравнения осуществляли с использованием метода Холма–Бонферрони. Тенденцию к образованию кластеров проверяли с использованием алгоритма VAT [15] и метода главных компонент.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

От 20 здоровых детей всего было выделено 1819 штаммов микроорганизмов. Видовую идентификацию

большинства штаммов проводили при помощи масс-спектрометрического метода MALDI TOF MS. Для установления таксономической принадлежности 140 штаммов бактерий, которые не удалось идентифицировать методом масс-спектрометрии, проводили секвенирование фрагмента гена 16S рПНК. Сравнительный анализ полученных нуклеотидных последовательностей с базой данных GenBank показал, что 130 штаммов бактерий принадлежали к 88 известным видам, а 10 относились к новым, еще не изученным таксонам бактерий. Количество выявленных видов микроорганизмов на один образец варьировало от 21 до 48 и в среднем составило  $34 \pm 8$ . Общее количество жизнеспособных бактерий на 1 г фекалий варьировало от  $10,0$  до  $11,1 \log_{10}$  КОЕ/г и в среднем составило  $10,6 \pm 0,4 \log_{10}$  КОЕ/г.

В целом, было обнаружено, что выделенные штаммы принадлежали к 7 типам, 13 классам, 18 порядкам, 33 семействам, 77 родам и 149 видам домена бактерий. Также было выделено 3 вида грибов, относящихся к двум семействам порядка *Saccharomycetales*.

Снижение размерности методом главных компонент, а также использование алгоритма VAT не выявили тенденции к образованию кластеров из микробиоценозов обследуемых детей на основании полученных данных о количественном и качественном составе, что не позволяет сгруппировать микробиоценозы в этом исследовании в энтеротипы или их аналоги. Не было выявлено статистически значимых различий в микробном составе кишечной микробиоты в зависимости от возраста и пола детей, что может быть обусловлено малым размером и гомогенностью выборки.

Родовая принадлежность, частота встречаемости и количественный уровень микроорганизмов, выделенных из образцов фекалий 20 здоровых детей, представлены в табл. 1–5. Выявлено, что доминирующие по количеству и частоте встречаемости бактерии принадлежали к типам *Firmicutes* ( $9,8 \pm 0,4 \log_{10}$  КОЕ/г), *Bacteroidetes* ( $10,3 \pm 0,4 \log_{10}$  КОЕ/г), *Actinobacteria* ( $10,0 \pm 0,5 \log_{10}$  КОЕ/г) и *Proteobacteria* ( $8,5 \pm 1,1 \log_{10}$  КОЕ/г). Представители каждой из этих групп бактерий были обнаружены у всех детей. Кроме того, у 25% детей из испражнений были получены в среднем количестве  $9,1 \pm 0,4 \log_{10}$  КОЕ/г в чистой культуре бактерии вида *Akkermansia muciniphila*, относящиеся к типу *Verrucomicrobia*, и у двух детей *Fusobacterium mortiferum* ( $8,8$  и  $8,6 \log_{10}$  КОЕ/г), представители типа *Fusobacteria*. От одного ребенка в концентрации, составившей  $10^9 \log_{10}$  КОЕ/г испражнений, был выделен штамм бактерий *Victivallis vadensis*, относящихся к типу *Lentisphaerae*.

Тип *Actinobacteria* включал в себя два класса бактерий *Actinobacteria* и *Coriobacteriia* (табл. 1). Бактерии класса *Actinobacteria* принадлежали к 4 порядкам и 4 семействам, среди которых доминировали представители семейств *Bifidobacteriaceae* и *Propionibacteriaceae*. Бифидобактерии, частота встречаемости которых составляла 100% случаев, были одними из доминирующих микроорганизмов в кишечной микрофлоре здоровых детей. Всего у детей было выделено 6 видов бифидобактерий, среди которых преобладали *B. longum*, *B. bifidum*, *B. adolescentis*, и бифидобактерии группы *B. catenulatum/pseudocatenulatum*.

Класс *Coriobacteriia* в большей степени был представлен семействами *Coriobacteriaceae* и *Eggerthellaceae*, доминирующими видами которых были *Collinsella aerofaciens* и *Eggerthella lenta*.

Тип *Bacteroidetes* включал 5 семейств бактерий только одного порядка *Bacteroidales* (табл. 2). Семейство



Таблица 1. Видовая принадлежность культивируемых бактерий типа *Actinobacteria* кишечной микрофлоры, выделенных от здоровых детей ( $n = 20$ )

Тип <i>Actinobacteria</i>			
Класс <i>Actinobacteria</i>			
Название таксонов	Число обнаружений (%) <sup>a</sup>	$C \pm C_{\text{откл.}} \log_{10} \text{ КОЕ/г}^b$	Питательные среды <sup>e</sup>
Порядок <i>Bifidobacteriales</i> , семейство <i>Bifidobacteriaceae</i> , род <i>Bifidoibacterium</i>	20 (100)	$9,8 \pm 0,6$	
<i>Bifidobacterium longum</i>	20 (100)	$9,3 \pm 0,5$	SAA; ABA; CA; BA
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	8 (40)	$9,5 \pm 0,6$	SAA; ABA; CA; BA
<i>Bifidobacterium catenulatum/pseudocatenulatum</i> <sup>f</sup>	11 (55)	$9,1 \pm 0,7$	SAA; ABA; CA; BA
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	8 (40)	$9,5 \pm 0,6$	SAA; ABA; CA; BA
<i>Bifidobacterium animalis</i>	6 (30)	$9,3 \pm 0,7$	SAA; ABA; CA; BA
<i>Bifidobacterium breve</i>	2 (10)	$9 - 10,2^d$	SAA; ABA; BA
Порядок <i>Propionibacteriales</i> , семейство <i>Propionibacteriaceae</i> , род <i>Cutibacterium</i>	7 (35)	$9,1 \pm 0,6$	
<i>Cutibacterium acnes</i>	5 (25)	$8,9 \pm 0,7$	SAA; ABA; BA
<i>Cutibacterium granulosum</i>	2 (10)	$9 - 9,8$	ABA; CA
Класс <i>Coriobacteriia</i>			
Порядок <i>Coriobacteriales</i> , семейство <i>Coriobacteriaceae</i>			
<i>Collinsella aerofaciens</i>	11 (55)	$9,2 \pm 0,7$	SAA; ABA; CA; BA
Порядок <i>Eggerthellales</i> , семейство <i>Eggerthellaceae</i>			
<i>Eggerthella lenta</i>	17 (85)	$8,8 \pm 0,7$	SAA; ABA; CA
<i>Gordonibacter pamelae</i>	3 (15)	$8,5 \pm 0,9$	ABA; CA; PAB
<i>Raoultibacter massiliensis</i>	1 (5)	9	CA
<i>Slackia isoflavoniconvertens</i>	1 (5)	9,3	CA
<i>Adlercreutzia equolifaciens</i>	1 (5)	9	CA

**Примечание** (в этой таблице и в табл. 2–5): <sup>a</sup> Частота наблюдений (абсолютное число детей в %); <sup>b</sup> Среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение  $\log_{10}$  числа жизнеспособных микроорганизмов в 1 г испражнений (КОЕ/г — колониеобразующих единиц в 1 г испражнений); <sup>c</sup>/\* — группа филогенетически близких микроорганизмов, принадлежность к которой установлена методом MALDI TOF MS при помощи прибора Vitek MS Plus и программы Saramis Premium V. 4.10; <sup>d</sup> Меньшее и большее значение показателя  $\log_{10}$  числа жизнеспособных микроорганизмов, в случае если они были обнаружены только у двух обследованных детей в группе; <sup>e</sup> Названия питательных сред, которые были использованы для выделения и учета соответствующих видов микроорганизмов. SAA — Schaedler Anaerobe Agar; ABA — Anaerobe Basal Agar; CA — Columbia Agar; BA — Bifidobacterium Agar; PAB — Perfringens Agar Base; MRS — Lactobacillus MRS Agar; EA — Endo Agar; SSA — Salmonella-Shigella-Agar; GMSA — Gelatin Mannitol Salt Agar (Staphylococcus Agar # 110); mEA — mEnterococcus Agar; CAa — Columbia Agar, чашки с которым инкубировали аэробно; SC2A — Sabouraud Chloramphenicol 2 Agar.

*Bacteroidaceae* было представлено одним родом *Bacteroides*, к которому относилось 14 обнаруженных видов. Частота выделения бактериоидов составляла 100% случаев, а их среднее количество было равно  $10,1 \pm 0,4 \log_{10}$  КОЕ/г испражнений. Среди бактериоидов у здоровых детей доминировали виды *B. dorei/vulgatus* и *B. ovatus/xylanisolvans*, а также *B. uniformis*, *B. fragilis* и *B. thetaiotaomicron*.

Семейство *Rikenellaceae* также было представлено только одним родом *Alistipes*, к которому относилось 9 выделенных видов бактерий. Частота встречаемости *Alistipes* у здоровых детей составила 90% случаев. Среднее количество бактерий этого рода было равно  $9,5 \pm 0,4 \log_{10}$  КОЕ/г, доминировали виды *A. onderdonkii*, *A. putredinis* и *A. finegoldii*.

Бактерии, относившиеся к семейству *Porphyromonadaceae*, были выделены от 75% детей и относились к трем родам *Parabacteroides*, *Barnesiella* и *Coprobacter*. Доминирующими видами этих таксонов были *P. distasonis*, *P. merdae* и *B. intestinihominis*, обнаруженные у 45%, 35% и 40% детей соответственно. Причем почти во всех случаях, когда были обнаружены бактерии этих таксономических групп, их концентрация составляла или была близка к  $10^9$  КОЕ/г исследуемого материала.

Бактерии семейства *Prevotellaceae* оказались наиболее редкими представителями порядка *Bacteroidales* при использованном пороге обнаружения анаэробных бактерий, составлявшем не менее  $10^5$  микробных клеток на 1 г испражнений. В целом от трех детей (15%) было

выделено 5 штаммов бактерий этой группы, относящихся к видам *Prevotella copri*, *P. melaninogenica*, *P. rara* и *Paraprevotella clara*.

Тип *Firmicutes* отличался наибольшим разнообразием входящих в него таксонов и был представлен четырьмя классами бактерий, включавшими 7 порядков, 17 семейств, 45 родов и 93 вида микроорганизмов, в том числе новые таксоны бактерий, обнаруженные в этом исследовании (табл. 3). Класс *Clostridia* был представлен только порядком *Clostridiales*, к которому относились 47 видов бактерий, принадлежавших к 30 родам и 6 семействам. Представители семейства *Lachnospiraceae* обнаружены у 85% детей в средней концентрации, составившей  $9,0 \pm 1,0 \log_{10}$  КОЕ/г исследуемого материала, и были наиболее часто встречающимся таксоном этого класса. Среди видов бактерий, входивших в это семейство и обнаруживаемых чаще других, были *Clostridium clostridioforme*, определявшиеся у 55% детей в средней концентрации, равной  $8,2 \pm 1,0 \log_{10}$  КОЕ/г. Другими часто встречающимися родами семейства *Lachnospiraceae* были *Blautia* (у 65% детей в средней концентрации  $8,9 \pm 0,9 \log_{10}$  КОЕ/г), а также бактерии рода *Anaerostipes* (у 40% детей в концентрации  $8,2 \pm 1,0 \log_{10}$  КОЕ/г). Еще одним часто встречающимся семейством бактерий класса *Clostridia* были представители *Ruminococcaceae* (у 65% детей в средней концентрации  $8,8 \pm 0,5 \log_{10}$  КОЕ/г) и в большей степени представленные бактериями видов *Flavonifractor plautii*, *Ruthenibacterium lactatiformans*



Таблица 2. Видовая принадлежность культивируемых бактерий типа *Firmicutes* кишечной микрофлоры, выделенных от здоровых детей ( $n = 20$ )

Тип <i>Firmicutes</i>			
Название таксонов	Число обнаружений (%)	$C \pm C_{\text{откл.}} \log_{10}$ КОЕ/г	Питательные среды
Класс <i>Erysipelotrichia</i> , порядок <i>Erysipelotrichales</i>			
Семейство <i>Erysipelotrichaceae</i>	11 (55)	$8,5 \pm 1,0$	
Род <i>Erysipelatoclostridium</i>	11 (55)	$8,4 \pm 0,9$	
<i>Clostridium ramosum</i>	8 (40)	$8,2 \pm 0,9$	SAA; ABA; CA; PAB
<i>Clostridium innocuum</i>	8 (40)	$8,1 \pm 0,43$	SAA; ABA; CA; PAB
<i>Clostridium saccharogumia</i>	1 (5)	8,7	ABA
<i>Clostridium spiroforme</i>	1 (5)	9	SAA
<i>Holdemanella biformis</i>	1 (5)	9,4	SAA
<i>Dielma fastidiosa</i>	1 (5)	8	SAA; ABA; CA
<i>Coprobacillus cateniformis</i>	1 (5)	9	ABA
<i>Absiella dolichum</i>	1 (5)	8	CA
<i>Turicibacter sanguinis</i>	1 (5)	8	SAA
Класс <i>Clostridia</i> , порядок <i>Clostridiales</i>			
Семейство <i>Clostridiaceae</i>	10 (50)	$8,5 \pm 1,1$	
Род <i>Clostridium</i>	4 (20)	$8,1 \pm 1,4$	
<i>Clostridium perfringens</i>	3 (15)	$8,5 \pm 0,7$	SAA; CA; PAB
<i>Clostridium paraputrificum</i>	2 (10)	6,3 – 9,4	SAA; ABA; PAB
<i>Clostridium ventriculi</i>	1 (5)	10,4	ABA
<i>Clostridium barattii</i>	1 (5)	6	PAB
<i>Hungatella hathewayi</i>	7 (35)	$7,8 \pm 0,8$	SAA; PAB
<i>Mordavella sp.</i>	1 (5)	9	ABA
<i>Lactonifactor sp. ASD3451</i>	1 (5)	8	PAB
Семейство <i>Lachnospiraceae</i>	17 (85)	$9,0 \pm 1,0$	
Род <i>Lachnoclostridium</i>	13 (65)	$8,4 \pm 1,0$	
<i>Clostridium clostridioforme</i>	11 (55)	$8,2 \pm 1,0$	SAA; ABA; PAB
<i>Clostridium scindens</i>	3 (15)	$8,0 \pm 0,0$	SAA; PAB
<i>Clostridium symbiosum</i>	2 (10)	6,0 – 8,0	SAA; PAB
<i>Lachnoclostridium sp. ASD2032</i>	1 (5)	9	SAA
<i>Clostridium lavalense</i>	1 (5)	6	PAB
<i>Clostridium hylemonae</i>	1 (5)	9	SAA
<i>Lachnoclostridium sp. ASD3950</i>	1 (5)	9,3	ABA
<i>Anaerostipes sp.</i>	8 (40)	$8,2 \pm 1,0$	SAA; ABA; CA
<i>Eisenbergiella tayi</i>	2 (10)	8,0 – 9,0	ABA; CA
Род <i>Blautia</i>	13/65	$8,9 \pm 0,9$	
<i>Blautia torques</i>	7 (35)	$8,8 \pm 0,5$	SAA; ABA; CA
<i>Blautia coccoides</i>	6 (30)	$7,5 \pm 0,8$	ABA; PAB
<i>Blautia gnavus</i>	6 (30)	$8,7 \pm 0,6$	SAA; ABA; CA
<i>Blautia luti</i>	5 (25)	$8,5 \pm 0,7$	SAA; ABA
<i>Blautia faecis</i>	5 (25)	$8,6 \pm 0,6$	SAA; CA
<i>Blautia obeum</i>	3 (15)	$8,5 \pm 0,5$	SAA; ABA
<i>Blautia wexlerae</i>	2 (10)	8,0 – 9,0	ABA; PAB
<i>Blautia sp. ASD2945</i>	1 (5)	8	ABA
<i>Blautia caecimuris</i>	1 (5)	9,6	ABA; CA
Семейство <i>Ruminococcaceae</i>	13/65	$8,8 \pm 0,5$	
<i>Flavonifractor plautii</i>	7 (35)	$8,7 \pm 0,5$	SAA; ABA; PAB
<i>Ruthenibacterium lactatiformans</i>	5 (25)	$8,5 \pm 0,5$	ABA; CA
<i>Anaerotruncus colihominis</i>	4 (20)	$8,3 \pm 0,5$	ABA; PAB
<i>Flavonifractor sp. ASD20665</i>	1 (5)	7,3	PAB
<i>Monoglobus pectinilyticus</i>	1 (5)	8,3	SAA
<i>Ruminiclostridium leptum</i>	1 (5)	8	ABA

Faecalibacterium prausnitzii	1 (5)	8,3	ABA
Gemmiger formicillis	1 (5)	8	ABA
Agathobaculum sp. ASD2948	1 (5)	8	ABA
Ruminococcaceae ASD2818	1 (5)	8	SAA
Род Dorea	4 (20)	8,6 ± 0,6	
Dorea longicatena	3 (15)	8,2 ± 0,3	SAA; ABA; PAB
Dorea formicirans	1 (5)	8	PAB
Dorea sp.	1 (5)	9,3	ABA
Sellimonas intestinalis	7 (35)	8,8 ± 0,5	SAA; ABA;
Fusicatenibacter saccharivorans	3 (15)	8,4 ± 0,5	ABA; CA
Coproccoccus comes	1 (5)	8,8	ABA
Семейство Eubacteriaceae	4 (20)	7,8 ± 0,39	ABA; PAB
Eubacterium limosum			
Семейство Christensenellaceae	1 (5)	9	CA
Christensenella minuta			
Семейство Peptostreptococcaceae			
Terrisporobacter sp.	1 (5)	8	PAB
Paeniclostridium sordellii	1 (5)	9	SAA
Рода с неопределенным таксономическим положением			
Intestinimonas sp.	1 (5)	9	ABA
Lawsonibacter asaccharolyticus	1 (5)	9	CA
Класс Bacilli			
Порядок Lactobacillales			
Семейство Lactobacillaceae			
Род Lactobacillus	13/65	6,3 ± 1,6	
Lactobacillus casei/paracasei	6 (30)	6,3 ± 1,9	MRS
Lactobacillus gasseri/acidophilus	5 (20)	7,0 ± 1,2	MRS
Lactobacillus rhamnosus	3 (15)	4,5 ± 0,2	MRS
Lactobacillus salivarius/delbruekii	2 (10)	5,5 – 6,3	MRS
Lactobacillus fermentum	1 (5)	4	MRS
Lactobacillus brevis	1 (5)	4	MRS
Семейство Leuconostocaceae	1 (5)	6,3	MRS
Leuconostoc lactis			
Семейство Enterococcaceae			
Род Enterococcus	16/80	6,1 ± 1,3	
Enterococcus faecalis	8 (40)	5,8 ± 1,0	mEA
Enterococcus faecium	9 (45)	4,9 ± 0,7	mEA
Enterococcus durans	3 (15)	4,3; 4,8; 9,5	mEA
Enterococcus avium/raffinosis	7 (35)	6,5 ± 0,8	mEA
Enterococcus casseliflavus	1 (5)	6	mEA
Enterococcus gallinarum	1 (5)	4	mEA
Семейство Streptococcaceae			
Род Streptococcus	19/95	7,5 ± 1,2	
Streptococcus salivarius	17/85	6,9 ± 1,2	mEA, MRS
Streptococcus parasanguinis	9 (45)	6,6 ± 1,0	mEA, MRS
Streptococcus oralis/pneumoniae/mitis	5 (45)	7,1 ± 2,6	mEA, MRS
Streptococcus anginosus	2 (10)	5,0 – 5,7	mEA, MRS
Streptococcus mutans	2 (10)	6,1 – 6,3	mEA, MRS
Streptococcus constellatus	1 (5)	6	MRS
Streptococcus infantarius	1 (5)	8,4	MRS
Streptococcus disgalactiae	1 (5)	8,9	CA
Род Lactococcus	1 (5)	6,1	MRS
Lactococcus lactis			

Семейство <i>Aerococcaceae</i>	1 (5)	6	SAA
<i>Aerococcus viridans</i>			
Порядок <i>Bacillales</i>			
Семейство <i>Staphylococcaceae</i>	18/90	5,0 ± 1,7	
<i>Staphylococcus aureus</i>	14/70	3,9 ± 0,8	GMSA
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6 (30)	4,3 ± 1,4	GMSA
<i>Staphylococcus hominis</i>	3 (15)	4,6 ± 0,8	GMSA
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	3 (15)	2,5 – 5,2	GMSA
<i>Staphylococcus sacharolyticus</i>	2 (10)	9	ABA
<i>Staphylococcus warneri</i>	2 (10)	5,2 – 8,8	GMSA; CA
<i>Staphylococcus capitis</i>	1 (5)	4,3	GMSA
<i>Staphylococcus gallinarum</i>	1 (5)	3,2	GMSA
Семейство <i>Bacillaceae</i>	6 (30)	3,4 ± 0,3	GMSA
<i>Bacillus sp.</i>			
Класс <i>Negativicutes</i>			
Порядок <i>Veillonellales</i>	12 (60)	8,8 ± 0,9	
Семейство <i>Veillonellaceae</i>			
<i>Veillonella sp.</i>	7 (35)	8,0 ± 0,9	SAA; ABA; CA
<i>Allisonella histaminiformans</i>	1 (5)	8	ABA
Род <i>Dialister</i>	9 (45)	9,0 ± 0,5	
<i>Dialister invisus</i>	8 (40)	9,1 ± 0,4	SAA; ABA
<i>Dialister succinatiphilus</i>	1 (5)	8	CA
Порядок <i>Selenomonadales</i> , семейство <i>Selenomonadaceae</i>			
<i>Megamonas sp.</i>	2 (10)	8,8 – 9,0	ABA; CA
Порядок <i>Acidaminococcales</i> , семейство <i>Acidaminococcaceae</i>			
<i>Phascolarctobacterium faecium</i>	8 (40)	9,0 ± 0,4	SAA; ABA; CA
<i>Phascolarctobacterium succinatutens</i>	1 (5)	8	SAA

и *Anaerotruncus colihominis*. Стоит отметить, что бактерии таких видов семейства *Ruminococcaceae*, как *Faecalibacterium prausnitzii* и *Gemmiger formicilis*, которые по результатам секвенирования библиотек генов 16S рРНК составляют доминирующую часть нормальной микрофлоры кишечника человека [16], были выделены нами только от одного ребенка. Этот результат скорее указывает на необходимость использования для их выделения специальных питательных сред и технологий культивирования, максимально исключающих контакт исследуемого материала и сред с посевами с кислородом воздуха, ввиду чрезвычайно высокой чувствительности к нему бактерий этих таксонов.

Еще одним часто определявшимся таксоном бактерий типа *Firmicutes* были представители семейства *Erysipelotrichaceae* (класс *Erysipelotrichia*, порядок *Erysipelotrichales*), которые были обнаружены у 55% здоровых детей в средней концентрации, составившей  $8,5 \pm 1,0 \log_{10}$  КОЕ/г исследуемого материала. Среди 6 родов и 9 видов бактерий этого семейства доминировали *Clostridium innocuum* и *Clostridium ramosum* — их выявляли с частотой, равной 40% в концентрации, превышавшей  $10^8$  КОЕ/г исследуемого материала.

Бактерии, относящиеся к классу *Negativicutes*, были обнаружены у 100% детей в средней концентрации, равной  $8,9 \pm 0,7 \log_{10}$  КОЕ/г исследуемого материала. Доминирующими таксонами этой группы были представители семейств *Veillonellaceae*, к которым относились бактерии родов *Veillonella* и *Dialister* (у 35% и 45% детей соответственно), а также семейства *Acidaminococcaceae*, в основном

представленное бактериями вида *Phascolarctobacterium faecium*, высеванными в высокой концентрации из фекалий 40% детей.

Из бактерий толстой кишки, относящихся к типу *Proteobacteria*, выявлены представители классов *Betaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria* и *Gammaproteobacteria* (табл. 4). Класс *Betaproteobacteria* включал различные виды бактерий из семейства *Sutterellaceae* (выделены у 60% детей в средней концентрации  $8,8 \pm 0,4 \log_{10}$  КОЕ/г исследуемого материала). Класс *Deltaproteobacteria* в основном был представлен образующими сероводород бактериями вида *Bilophila wadsworthia* (выделены из фекалий 55% детей в средней концентрации  $8,0 \pm 0,8 \log_{10}$  КОЕ/г исследуемого материала). Наконец, класс *Gammaproteobacteria* был представлен только бактериями из родов, входящих в семейство *Enterobacteriaceae*, при этом *Escherichia coli* были обнаружены у 100% детей в средней концентрации  $7,2 \pm 0,4 \log_{10}$  КОЕ/г исследуемого материала. Другими относительно часто высеваемыми представителями семейства были бактерии видов *Enterobacter cloacae* (30%), *Citrobacter freundii* (20%) и *Klebsiella pneumoniae* (20%) в концентрациях, обычно не превышавших  $10^6$  КОЕ/г исследуемого материала.

Грибы были обнаружены у 45% здоровых детей в количестве  $3,4 \pm 1,4 \log_{10}$  КОЕ/г исследуемого материала, причем все выделенные штаммы принадлежали к порядку *Saccharomycetales* (табл. 5). В испражнениях 35% детей были определены грибы рода *Candida* семейства *Debaryomycetaceae*, относившиеся в основном к виду *C. albicans*. Кроме этого, у двух детей были обнаружены

Таблица 3. Видовая принадлежность культивируемых бактерий типа *Bacteroidetes* кишечной микрофлоры, выделенных от здоровых детей ( $n = 20$ )

Тип <i>Bacteroidetes</i> , класс <i>Bacteroidia</i> , порядок <i>Bacteroidales</i>			
Название таксонов	Число обнаружений (%)	$C \pm C_{\text{откл.}} \log_{10}$ КОЕ/г	Питательные среды
<b>Семейство <i>Bacteroidaceae</i></b>	<b>20 (100)</b>	<b><math>10,1 \pm 0,4</math></b>	
<i>Bacteroides dorei/vulgatus</i>	19 (95)	$9,5 \pm 0,5$	SAA; ABA; CA
<i>Bacteroides ovatus/xylanisolvans</i>	16 (80)	$9,2 \pm 0,5$	SAA; ABA; CA
<i>Bacteroides uniformis</i>	17 (85)	$9,4 \pm 0,5$	SAA; ABA; CA
<i>Bacteroides fragilis</i>	9 (45)	$9,1 \pm 0,6$	SAA; ABA; CA
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	9 (45)	$9,1 \pm 0,5$	SAA; ABA; CA
<i>Bacteroides caccae</i>	8 (40)	$9,0 \pm 0,7$	SAA; ABA; CA
<i>Bacteroides eggerthii</i>	6 (30)	$9,2 \pm 0,5$	SAA; ABA; CA
<i>Bacteroides stercoris</i>	4 (20)	$9,0 \pm 0,2$	SAA; ABA; CA
<i>Bacteroides intestinalis</i>	3 (15)	$9,2 \pm 0,3$	SAA; ABA; CA
<i>Bacteroides clarus</i>	2 (10)	$9,0 - 10,3$	ABA
<i>Bacteroides massiliensis</i>	2 (10)	$9,3 - 9,5$	SAA; ABA; CA
<i>Bacteroides plebeius</i>	1 (5)	9,6	SAA; ABA; CA
<i>Bacteroides coprocola</i>	1 (5)	8	ABA
<i>Bacteroides salyersiae</i>	1 (5)	8	CA
<i>Bacteroides sp. ASD2038</i>	1 (5)	9,7	SAA
<b>Семейство <i>Rikenellaceae</i></b>	<b>18/90</b>	<b><math>9,5 \pm 0,4</math></b>	
<i>Alistipes onderdonkii</i>	11 (55)	$9,1 \pm 0,5$	SAA; ABA; CA
<i>Alistipes putredinis</i>	10 (50)	$9,5 \pm 0,5$	SAA; ABA; CA
<i>Alistipes finigoldii</i>	8 (40)	$8,8 \pm 0,7$	SAA; ABA; CA
<i>Alistipes shachii</i>	5 (25)	$9,2 \pm 0,3$	SAA; ABA; CA
<i>Alistipes indistinctus</i>	2 (10)	$8,0 - 9,0$	CA
<i>Alistipes obessii</i>	3 (15)	$9,1 \pm 0,2$	ABA
<i>Alistipes inops</i>	3 (15)	$8,8 \pm 0,7$	SAA; ABA
<i>Alistipes massiliensis</i>	1 (5)	8,8	ABA; CA
<i>Alistipes ihumii</i>	1 (5)	9,4	SAA; ABA
<b>Семейство <i>Porphyromonadaceae</i></b>	<b>15 (75)</b>	<b><math>9,4 \pm 0,5</math></b>	
<b>Род <i>Parabacteroides</i></b>	<b>13 (65)</b>	<b><math>9,2 \pm 0,7</math></b>	
<i>Parabacteroides distasonis</i>	9 (45)	$9,1 \pm 0,8$	SAA; ABA; CA
<i>Parabacteroides merdae</i>	7 (35)	$8,9 \pm 0,7$	SAA; ABA; CA
<i>Parabacteroides sp. ASD2049</i>	1 (5)	9	SAA
<i>Barnesiella intestinihominis</i>	8 (40)	$9,2 \pm 0,3$	SAA; ABA; CA
<i>Coprobacter fastidiosus</i>	3 (15)	$9,1 \pm 0,1$	SAA; ABA; CA
<b>Семейство <i>Odoribacteraceae</i></b>	<b>8 (40)</b>	<b><math>9,3 \pm 0,3</math></b>	
<i>Odoribacter splanchnicus</i>	5 (25)	$9,3 \pm 0,3$	SAA; ABA; CA
<i>Butyricimonas sp.</i>	4 (20)	$9,3 \pm 0,4$	ABA; CA
<b>Семейство <i>Prevotellaceae</i></b>	<b>3 (15)</b>	<b><math>8,8 \pm 0,9</math></b>	
<i>Prevotella copri</i>	2 (10)	$8,5 - 9,0$	SAA; ABA; CA
<i>Prevotella melaninogenica</i>	1 (5)	8	ABA
<i>Prevotella rara</i>	1 (5)	9	ABA; CA
<i>Paraprevotella clara</i>	1 (5)	9,6	ABA; CA

грибы, принадлежавшие виду *Clavispora lusitaniae* семейства *Metschnikowiaceae*.

Таксономические свойства 10 штаммов бактерий, которые были выделены при выполнении этих исследований и видовую принадлежность которых установить не удалось, представлены в табл. 6. Большинство (7 из 10 штаммов) принадлежали к типу *Firmicutes*. Четыре из них имели филогенетическую связь с видами из родов *Blautia*, *Flintibacter* и *Lachnoclostridium* из семейства

*Lachnospiraceae*. Два клона были близки к разным видам из семейства *Ruminococcaceae*, и еще один клон был филогенетически сходен с представителями рода *Lactonifactor* из семейства *Clostridiaceae*. Кроме того, один клон нового таксона бактерий был связан с типовым штаммом, принадлежащим семейству *Sutterellaceae*, относящемуся к типу *Proteobacteria*, и по одному клону принадлежали к родам *Parabacteroides* и *Bacteroides* (семейства *Porphyromonadaceae* и *Bacteroidaceae* соответственно, тип *Bacteroidetes*).



Таблица 4. Видовая принадлежность культивируемых бактерий типа *Proteobacteria* кишечной микрофлоры, выделенных от здоровых детей ( $n = 20$ )

Тип <i>Proteobacteria</i>			
Класс <i>Gammaproteobacteria</i>			
Название таксонов	Число обнаружений (%)	C $\pm$ СОкл. $\log_{10}$ КОЕ/г	Питательные среды
Порядок <i>Enterobacteriales</i> , семейство <i>Enterobacteriaceae</i>			
<i>Escherichia coli</i>	20 (100)	7,2 $\pm$ 1,4	EA; CAa
<i>Enterobacter cloacae</i>	6 (30)	6,0 $\pm$ 1,5	EA; SSA; CAa
<i>Citrobacter freundii</i>	4 (20)	5,8 $\pm$ 0,68	EA; SSA; CAa
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4 (20)	6,5 $\pm$ 1,7	EA; CAa
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	1 (5)	6,5	CAa
<i>Proteus mirabilis</i>	1 (5)	6	SSA; CAa
Класс <i>Betaproteobacteria</i> , порядок <i>Burkholderiales</i>			
Семейство <i>Sutterellaceae</i>			
<i>Parasutterella excrementihominis</i>	4 (20)	8,6 $\pm$ 0,4	ABA; CA
<i>Sutterella wadsworthensis</i>	5 (25)	8,9 $\pm$ 0,1	ABA
<i>Sutterella massiliensis</i>	1 (5)	9,5	CA
<i>Sutterella</i> sp. ASD3426	1 (5)	8	CA
<i>Duodenibacillus massiliensis</i>	1 (5)	9,1	SAA
Семейство <i>Oxalobacteraceae</i>			
<i>Massilia timonae</i>	1 (5)	8	CA
Класс <i>Deltaproteobacteria</i>			
Порядок <i>Desulfovibrionales</i> , семейство <i>Desulfovibrionaceae</i>			
<i>Bilophila wadsworthia</i>	11 (55)	8,0 $\pm$ 0,8	SAA; CA; PAB
<i>Desulfovibrio piger</i>	1 (5)	8,1	PAB

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Выбор возрастной группы для исследования был обусловлен тем, что качественные и количественные параметры состава микрофлоры кишечника у детей приближаются к значениям, характерным для взрослых людей, приблизительно к трехлетнему возрасту [17]. К этому возрасту кишечная микрофлора приобретает относительную композиционную стабильность, трактуемую как характерная для отдельного индивидуума устойчивость к изменению относительной численности видов с течением времени [18].

Основные проблемы, возникающие при использовании культуральных методов в исследованиях микробиоты кишечника, связаны с подбором питательных сред, которые должны поддерживать рост требовательных строго анаэробных бактерий, и необходимостью проведения видовой идентификации многочисленных штаммов микроорганизмов, растущих на этих средах. В работе мы использовали известные питательные среды, хорошо зарекомендовавшие себя в том числе для целей выделения строго анаэробных бактерий микрофлоры кишечника. В частности, для выделения строго анаэробных бактерий мы использовали 5 различных питательных сред, разлитых в чашки Петри, которые после посева инкубировали при 37 °C в микроанаэроstats в анаэробной газовой среде.

Ранее было показано, что увеличение количества используемых питательных сред и количества обследуемых субъектов ведет к увеличению числа выделяемых видов бактерий, что говорит о значительных межиндивидуальных различиях в составе кишечной микробиоты у человека [3]. Это подтверждают и результаты метагеномного секвенирования, выявившие очень высокую изменчивость численности (в 12–2200 раз) для 57 наиболее распространенных видов микроорганизмов у

людей [19]. В нашем исследовании, несмотря на то что от каждого конкретного ребенка было выделено в среднем  $34 \pm 8$  видов микроорганизмов, в целом у всех детей было обнаружено 159 видов бактерий, включая новые таксоны.

Наибольшее видовое разнообразие (более 90 видов бактерий) нами было обнаружено в составе типа *Firmicutes*, причем более половины из них принадлежали к классу *Clostridia* порядка *Clostridiales*. Доминирующими по частоте встречаемости и по количественному содержанию семействами этого класса были *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae*. Полученные нами данные, характеризующие состав этой части микробиоты у детей в России, хорошо согласуются с результатами ранее проведенных исследований, в которых как культуральными методами, так и посредством анализа нуклеотидных последовательностей библиотек генов 16S рДНК было установлено доминирование этих таксонов в образцах кишечной микробиоты человека [6, 20].

Среди выделенных нами в чистой культуре из испражнений здоровых детей представителей кишечных эндосимбионтов, относящихся в частности к классам *Erysipelotrichia* и *Clostridia*, также присутствовали бактерии, для которых была установлена связь с различными инфекционными заболеваниями, поэтому совершенствование методов культивирования и видовой идентификации бактерий этих таксонов имеет не только экологическое, но и клиническое значение. Например, *Clostridium innocuum* часто ассоциированы с бактериемиями у пациентов с иммунодефицитными состояниями и отличаются устойчивостью к антибактериальным препаратам, используемым для купирования анаэробных инфекций. *C. ramosum*, которые также были выделены нами, считают вторыми наиболее часто встречающимися бактериями из группы клостридий после *C. perfringens*, обнаруживаемыми

Таблица 5. Видовая принадлежность грибов порядка *Saccharomycetales* кишечной микрофлоры, выделенных от здоровых детей ( $n = 20$ )

Название таксонов грибов	Число обнаружений (%)	$C \pm C_{откл.} \log_{10}$ КОЕ/г	Питательные среды
Порядок <i>Saccharomycetales</i>	9 (45)	$3,4 \pm 1,4$	
Семейство <i>Debaryomycetaceae</i>	7 (35)	$3,5 \pm 1,4$	
<i>Candida albicans</i>	5 (25)	$3,7 \pm 1,4$	SC2A
<i>Candida parapsilosis</i>	1 (5)	2,5	SC2A
<i>Candida sp.</i>	1 (5)	2,5	SC2A
Семейство <i>Metschnikowiaceae</i>	2 (10)	2,0 – 5,0	SC2A
<i>Clavispora lusitanae</i>			

Таблица 6. Новые филоциты кишечных бактерий, выделенные от здоровых детей, и значения уровней гомологии нуклеотидной последовательности их 16S рДНК с той же последовательностью типовых штаммов ближайших валидированных в соответствии с правилами International Code of Nomenclature of Bacteria (Bacteriological Code) видов.

№	Номер штамма	Тип/семейство	№ сиквенса в Genbank	Ближайшие штаммы с высокосходными последовательностями при быстром сравнении (Megablast) в GenBank	Гомология (%)
1	ASD 3426	<i>Proteobacteria Sutterellaceae</i>	MK615133.1	<i>Sutterella wadsworthensis</i> WAL9799	97,93
2	ASD2049	<i>Bacteroidetes Porphyromonadaceae</i>	MG321612.1	<i>Parabacteroides merdae</i> JCM9497	96,63
3	ASD2038	<i>Bacteroidetes Bacteroidaceae</i>	MK615124.1	<i>Bacteroides ovatus</i> ATCC 8483	98,19
4	ASD2032	<i>Firmicutes Lachnospiraceae</i>	MK615123.1	[Clostridium] <i>amygdalinum</i> BR-10	95,72
5	ASD2945	<i>Firmicutes Lachnospiraceae</i>	MK615128.1	<i>Blautia faecis</i> KB1	96,03
6	ASD3950	<i>Firmicutes Lachnospiraceae</i>	MK615131.1	[Clostridium] <i>glycyrrhizinilyticum</i> ZM35	95,73
7	ASD3451	<i>Firmicutes Clostridiaceae</i>	MK615130.1	<i>Lactonifactor longoviformis</i> ED-Mt61/PYG-s6	94,61
8	ASD20665	<i>Firmicutes Ruminococcaceae</i>	MK615126.1	<i>Flintibacter butyricus</i> BLS21	97,33
9	ASD2818	<i>Firmicutes Ruminococcaceae</i>	MH043116.1	<i>Caproiciproducens galactitolivorans</i> BS-1	93,76
10	ASD2948	<i>Firmicutes Ruminococcaceae</i>	MK615129.1	<i>Agathobaculum desmolans</i> ATCC43058	97,01

в клиническом материале от детей с абсцессами, перитонитами, бактериемиями и хроническими средними отитами, и третьим наиболее часто встречающимся видом клостридий при бактериемиях у взрослых [21, 22].

Тип *Bacteroidetes* составил вторую группу по количеству выявленных таксонов после *Firmicutes* и был представлен 33 видами бактерий, относящихся, однако, только к одному порядку *Bacteroidales*.

Известно, что *Bacteroidales* включает в себя основную часть анаэробных неспорообразующих грамотрицательных палочковидных бактерий, колонизирующих желудочно-кишечный тракт человека [23]. Мы обнаружили, что у детей младшего возраста в кишечной микрофлоре доминировали представители семейств *Bacteroidaceae*, *Rikenellaceae* и *Porphyromonadaceae*, которые были выделены из фекалий 100%, 90% и 75% детей соответственно. В более ранней работе для оценки состава доминирующих групп кишечных бактерий из порядка *Bacteroidales* у детей в возрасте 6 лет мы проводили высев серийных разведений испражнений только на Columbia Agar с добавлением бараньей крови с последующим определением видовой принадлежности выросших анаэробных грамотрицательных палочковидных бактерий при помощи комбинации методов, включающей и рестрикционный анализ амплифицированных фрагментов гена 16S рПНК (ARDRA), а также их секвенирование. В этом исследовании из фекалий 8 детей нами было выделено всего 38 штаммов бактерий, принадлежавших

к 13 видам *Bacteroidales* [12]. В настоящем исследовании для выявления той же группы бактерий мы использовали 3 различные питательные среды с предварительной идентификацией всех выросших бактерий при помощи методов масс-спектрометрии и дополнительным секвенированием гена 16S рДНК, выполненным для штаммов с неясным таксономическим положением. Этот подход позволил нам кроме бактерий, относящихся к другим таксономическим группам, выделить 33 вида бактерий, относящихся к 9 родам и 5 семействам порядка *Bacteroidales*.

Представители семейства *Prevotellaceae*, также относящегося к порядку *Bacteroidales*, среди доминирующих групп бактерий были обнаружены нами только у троих детей (15%). Несмотря на то что к настоящему времени известно около 30 видов превотелл, колонизирующих в основном ротовую полость человека, до недавнего времени в качестве комменсалов кишечника рассматривали только два вида бактерий этого рода — *P. copri* и *P. stercorea*. В нашей работе, кроме *P. copri* и редко изолируемых из кишечника *P. melaninogenica*, впервые от ребенка были выделены превотеллы недавно описанного нового вида *P. rara* [24].

В качестве доминирующих групп кишечных бактерий превотеллы преимущественно определяют у людей, в диете которых существенно преобладают продукты растительного происхождения, что связывают со

способностью этих бактерий расщеплять растительные полисахариды в дистальных отделах кишечного тракта [20]. Вместе с тем, преобладание в кишечной микробиоте бактерий рода *Bacteroides* и представителей порядка *Clostridiales*, которое было зарегистрировано и в нашей работе, ранее было ассоциировано с использованием смешанной диеты, характеризующейся включением в пищевой рацион наряду с растительными продуктами продуктов животного происхождения и легко усваиваемых углеводов [25, 26].

## ВЫВОДЫ

Использованный нами подход, основанный на применении широкого спектра питательных сред для выделения трудно культивируемых групп кишечных эндосимбионтов как в аэробных, так и в анаэробных условиях, с последующей видовой идентификацией бактерий с помощью масс-спектрометрического метода и метода секвенирования гена 16S rPHK, позволил провести анализ качественного и количественного состава доминирующих культивируемых групп микроорганизмов кишечной микрофлоры у детей. В целом полученные путем использования культурального метода результаты о таксономическом составе фекальной микрофлоры детей не противоречат данным, получаемым при использовании молекулярных методов, основанных на секвенировании бактериальных ДНК. Кроме того, нами были выделены в чистой культуре многочисленные штаммы трудно культивируемых бактерий и 10 штаммов

новых бактерий с еще не изученными биологическими свойствами. Полученные данные позволяют расширить представления о спектре культивируемых таксономических групп кишечных бактерий и об их количественном содержании у детей. Выделенные нами штаммы как известных, так и новых таксонов могут быть использованы для изучения широкого репертуара их свойств, в том числе биотерапевтического потенциала в целях создания на их основе новых пробиотических лекарственных препаратов. В то же время многие известные таксоны кишечных эндосимбионтов, включая представителей таких доминирующих родов, как *Faecalibacterium* и *Roseburia*, нам выделить не удалось, что указывает на необходимость использования в таких исследованиях более совершенных анаэробных технологий, в частности анаэробных камер на этапах пробоподготовки, посева и учета выросших культур. Сложность и трудоемкость развернутого культурального метода для оценки многокомпонентной кишечной микробиоты не позволяют рекомендовать его для широкого применения в клинической практике, даже если предположить, что в будущем удастся полностью автоматизировать все этапы исследования. Однако отработка методов выделения в чистой культуре и идентификации строго анаэробных кишечных бактерий необходима, так как эти бактерии могут обладать патобиотическим потенциалом и встречаться в клиническом материале (раневое отделяемое, биоптаты, кровь, ликвор и др.), в котором обычное количественное содержание видов бактерий не столь велико.

## Литература

- Maihe M, Ricaboni D, Vitton V, Gonzalez JM, Bachar D, Dubourg G, et al. Repertoire of the gut microbiota from stomach to colon using culturomics and next-generation sequencing. *BMC Microbiol.* 2018; (18): 157.
- Atanu A, Mojibur RK. An insight into gut microbiota and its functionalities. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 2019; (76): 473–93.
- Hayashi H, Sakamoto M, Benno Y. Phylogenetic analysis of the human gut microbiota using 16S rDNA clone libraries and strictly anaerobic culture-based methods. *Microbiol Immunol.* 2002; 46 (8): 535–48.
- Lagier J-C, Khelaifa S, Alou MT, Ndongo S, Dione N, Hugon P, et al. Culture of previously uncultured members of the human gut microbiota by culturomics. *Nature Microbiology.* 2016; (1): 16203.
- Shkoporov AN, Hill C. Bacteriophages of the Human Gut: The "Known Unknown" of the Microbiome. *Cell Host Microbe.* 2019; 25 (2): 195–209.
- Vandeputte D, Kathagen G, D'hoë K, Vieira-Silva S, Valles-Colomer M, Sabino J, et al. Quantitative microbiome profiling links gut community variation to microbial load. *Nature.* 2017; (551): 507–11.
- Tanoue T, Morita S, Plichta DR. A defined commensal consortium elicits CD8 T cells and anti-cancer immunity. *Nature.* 2019; (565): 600–05.
- Шкопоров А. Н., Ефимов Б. А., Хохлова Е. В., Черная З. А., Постникова Е. А., Белкова М. Д. Влияние приема пробиотических бактерий рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* на состав микрофлоры кишечника у здоровых людей. *Техника и технология пищевых производств.* 2014; (1): 126–30.
- Lagier JC, Dubourg G, Million M, Cadoret F, Bilen M, Fenollar F, et al. Culturing the human microbiota and culturomics. *Nat Rev Microbiol.* 2018; (1): 540–50.
- Rychert J, Burnham CA, Bythrow M, Garner OB, Ginocchio CC, Jennemann R, et al. Multicenter evaluation of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for identification of Gram-positive aerobic bacteria. *J Clin Microbiol.* 2013; 51 (7): 2225–31.
- McMullen AR, Wallace MA, Pincus DH, Wilkey K, Burnham CA. Evaluation of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for identification of clinically relevant filamentous fungi. *J Clin Microbiol.* 2016; (54): 2068–73.
- Shkoporov AN, Khokhlova EV, Kulagina EV, Smeianov VV, Kafarskaia LI, Efimov BA. Application of several molecular techniques to study numerically predominant *Bifidobacterium* spp. and *Bacteroidales* order strains in the feces of healthy children. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2008; 72 (3): 742–8.
- Чаплин А. В., Бржозовский А. Г., Парфёнова Т. В., Кафарская Л. И., Володин Н. Н., Шкопоров А. Н. и др. Изучение видового разнообразия бактерий рода *Bifidobacterium* кишечной микрофлоры с использованием метода MALDI-TOF масс-спектрометрии. *Вестник ПАМН.* 2015; 70 (4): 435–40.
- Stackebrandt E, Ebers J. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. *Microbiol Today.* 2006; (8): 6–9.
- Bezdek JC, Hathaway RJ. VAT: A Tool for Visual Assessment of Cluster Tendency. In: *Proceedings of the 2002 International Joint Conference Neural Networks.* 2002; (3): 2225–30.
- Fitzgerald CB, Shkoporov AN, Sutton TDS, Chaplin AV, Velayudhan V, Ross RP, et al. Comparative analysis of *Faecalibacterium prausnitzii* genomes shows a high level of genome plasticity and warrants separation into new species-level taxa. *BMC Genomics.* 2018; 19 (1): 931.
- Yatsunenkov T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature.* 2012; 486 (7402): 222–7.
- De Meij TGJ, Budding AE, De Groot EFJ, Jansen FM, Kneepkens CMF, Benninga MA, et al. Composition and stability of intestinal microbiota of healthy children within a Dutch population. *FASEB J.* 2016; 30 (4): 1512–22.
- Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. MetaHIT Consortium A human gut microbial gene catalogue

- established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010; (464): 59–65.
20. Browne HP, Forster SC, Anonye BO. Culturing of 'unculturable' human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation. *Nature*. 2016; 533 (7604): 543–6.
  21. Brook I. Clostridial Infections in Children: Spectrum and Management. *Curr Infect Dis Rep*. 2015; (17): 47.
  22. Chia JH, Feng Y, Su LH, Wu TL, Chen CL, Liang Y-H, et al. Clostridium innocuum is a significant vancomycin-resistant pathogen for extraintestinal clostridial infection *Clinical Microbiology and Infection*. 2017; (23): 560–6.
  23. The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012; 486 (7402): 207–14.
  24. Efimov BA, Chaplin AV, Shcherbakova VA, Suzina NE, Podoprigrora IV, Shkoporov AN. *Prevotella rara* sp. nov., isolated from human faeces. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2018; 68 (12): 3818–25.
  25. Shankar V, Gouda M, Moncivaiz J, Gordon A, Reo NV, Hussein L, et al. Differences in Gut Metabolites and Microbial Composition and Functions between Egyptian and U.S. Children Are Consistent with Their Diets. *mSystems*. 2017; 2 (1): e00169–16.
  26. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011; 473 (7346): 174–80.
  1. Mailhe M, Ricaboni D, Vitton V, Gonzalez JM, Bachar D, Dubourg G, et al. Repertoire of the gut microbiota from stomach to colon using culturomics and next-generation sequencing. *BMC Microbiol*. 2018; (18): 157.
  2. Atanu A, Mojibur RK. An insight into gut microbiota and its functionalities. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2019; (76): 473–93.
  3. Hayashi H, Sakamoto M, Benno Y. Phylogenetic analysis of the human gut microbiota using 16S rDNA clone libraries and strictly anaerobic culture-based methods. *Microbiol Immunol*. 2002; 46 (8): 535–48.
  4. Lagier J-C, Khelaifia S, Alou MT, Ndongo S, Dione N, Hugon P, et al. Culture of previously uncultured members of the human gut microbiota by culturomics. *Nature Microbiology*. 2016; (1): 16203.
  5. Shkoporov AN, Hill C. Bacteriophages of the Human Gut: The "Known Unknown" of the Microbiome. *Cell Host Microbe*. 2019; 25 (2): 195–209.
  6. Vandeputte D, Kathagen G, D'hoel K, Vieira-Silva S, Valles-Colomer M, Sabino J, et al. Quantitative microbiome profiling links gut community variation to microbial load. *Nature*. 2017; (551): 507–11.
  7. Tanoue T, Morita S, Plichta DR. A defined commensal consortium elicits CD8 T cells and anti-cancer immunity. *Nature*. 2019; (565): 600–05.
  8. Shkoporov AN, Efimov BA, Khokhlova EV, Chernaia ZA, Postnikova EA, Belkova MD. Effect of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* cultures on intestinal microbiota composition in healthy adults. *Tekhnika i Tekhnologiya Pishchevykh Proizvodstv*. 2014; (1): 126–30. Russian.
  9. Lagier JC, Dubourg G, Million M, Cadoret F, Bilen M, Fenollar F, et al. Culturing the human microbiota and culturomics. *Nat Rev Microbiol*. 2018; (1): 540–50.
  10. Rychert J, Burnham CA, Bythrow M, Garner OB, Ginocchio CC, Jennemann R, et al. Multicenter evaluation of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for identification of Gram-positive aerobic bacteria. *J Clin Microbiol*. 2013; 51 (7): 2225–31.
  11. McMullen AR, Wallace MA, Pincus DH, Wilkey K, Burnham CA. Evaluation of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for identification of clinically relevant filamentous fungi. *J Clin Microbiol*. 2016; (54): 2068–73.
  12. Shkoporov AN, Khokhlova EV, Kulagina EV, Smeianov VV, Kafarskaia LI, Efimov BA. Application of several molecular techniques to study numerically predominant *Bifidobacterium* spp. and *Bacteroidales* order strains in the feces of healthy children. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2008; 72 (3): 742–8.
  13. Chaplin AV, Brzhozovskii AG, Parfenova TV, Kafarskaia LI, Volodin NN, Shkoporov AN, et al. Species Diversity of *Bifidobacteria* in the Intestinal Microbiota Studied Using MALDI-TOF Mass-Spectrometry. *Vestn Ross Akad Med Nauk*. 2015; 70 (4): 435–40. Russian.
  14. Stackebrandt E, Ebers J. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. *Microbiol Today*. 2006; (8): 6–9.
  15. Bezdek JC, Hathaway RJ. VAT: A Tool for Visual Assessment of Cluster Tendency. In: *Proceedings of the 2002 International Joint Conference Neural Networks*. 2002; (3): 2225–30.
  16. Fitzgerald CB, Shkoporov AN, Sutton TDS, Chaplin AV, Velayudhan V, Ross RP, et al. Comparative analysis of *Faecalibacterium prausnitzii* genomes shows a high level of genome plasticity and warrants separation into new species-level taxa. *BMC Genomics*. 2018; 19 (1): 931.
  17. Yatsunenkov T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012; 486 (7402): 222–7.
  18. De Meij TGJ, Budding AE, De Groot EFJ, Jansen FM, Kneepkens CMF, Benninga MA, et al. Composition and stability of intestinal microbiota of healthy children within a Dutch population. *FASEB J*. 2016; 30 (4): 1512–22.
  19. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. MetaHIT Consortium A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010; (464): 59–65.
  20. Browne HP, Forster SC, Anonye BO. Culturing of 'unculturable' human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation. *Nature*. 2016; 533 (7604): 543–6.
  21. Brook I. Clostridial Infections in Children: Spectrum and Management. *Curr Infect Dis Rep*. 2015; (17): 47.
  22. Chia JH, Feng Y, Su LH, Wu TL, Chen CL, Liang YH, et al. Clostridium innocuum is a significant vancomycin-resistant pathogen for extraintestinal clostridial infection *Clinical Microbiology and Infection*. 2017; (23): 560–6.
  23. The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012; 486 (7402): 207–14.
  24. Efimov BA, Chaplin AV, Shcherbakova VA, Suzina NE, Podoprigrora IV, Shkoporov AN. *Prevotella rara* sp. nov., isolated from human faeces. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2018; 68 (12): 3818–25.
  25. Shankar V, Gouda M, Moncivaiz J, Gordon A, Reo NV, Hussein L, et al. Differences in Gut Metabolites and Microbial Composition and Functions between Egyptian and U.S. Children Are Consistent with Their Diets. *mSystems*. 2017; 2 (1): e00169–16.
  26. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011; 473 (7346): 174–80.

## References



## ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОМПЬЮТЕРНЫХ МОДЕЛЕЙ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ РИСКОВ ПРИ ВРЕМЕННОМ ПРОТЕЗИРОВАНИИ

Н. В. Багрянцева<sup>1,2</sup>✉, С. И. Гажва<sup>1</sup>, А. А. Баранов<sup>2</sup>, Л. Б. Шубин<sup>2</sup>, В. А. Багрянцев<sup>2</sup>, О. В. Багрянцева<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия

<sup>2</sup> Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Современная ортопедическая стоматология обладает большим арсеналом решений для оказания помощи пациентам с полной вторичной адентией, что, однако, может вызывать ряд проблем. При выборе вида временного протеза на момент остеоинтеграции дентальных имплантатов необходимо учитывать большое количество факторов, возникающих при различных клинических ситуациях. Целью работы было в ходе ретроспективного анализа медицинской документации пациентов с полной вторичной адентией и установленными временными протезами (покрывными съемными и условно-съемными) на момент остеоинтеграции дентальных имплантатов оценить факторы риска и отношение шансов их реализации в развитии осложнений на этот период. Осуществлено многомерное математико-статистическое моделирование с построением компьютерного алгоритма принятия решений в выборе типа протеза и материала для его изготовления. Алгоритм (модель) обладает высокими значениями чувствительности и специфичности — 94,37 (76,2 : 98,7) и 92,56 (79,8 : 97,6), при площади под характеристической кривой, равной 0,921 (0,843 : 0,963). Используя автоматизацию поэтапного алгоритма, планируется создать компьютерную программу для повышения степени объективности при выборе способа временного протезирования и материала протеза.

**Ключевые слова:** дентальная имплантация, остеоинтеграция, временное протезирование, риски, шансы, компьютерная модель

**Информация о вкладе авторов:** Н. В. Багрянцева — разработка дизайна исследования, получение данных, анализ и интерпретация данных, редактирование рукописи; С. И. Гажва — планирование исследования, редактирование рукописи; А. А. Баранов — редактирование рукописи; Л. Б. Шубин — анализ и интерпретация данных; В. А. Багрянцев, О. В. Багрянцева — сбор данных, подготовка черновика рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО НижГМА Минздрава России (протокол № 10 от 25 декабря 2017 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Наталья Владимировна Багрянцева  
ул. 8 марта, д. 1, кор. 2, кв. 71, г. Ярославль, 150002; nbogryanceva@mail.ru

**Статья получена:** 25.07.2019 **Статья принята к печати:** 09.08.2019 **Опубликована онлайн:** 16.08.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.050

## THE FEASIBILITY OF USING COMPUTER-BASED MODELS FOR REDUCING THE RISKS OF COMPLICATIONS ASSOCIATED WITH TEMPORARY DENTURES

Bagryantseva NV<sup>1,2</sup>✉, Gazhva SI<sup>1</sup>, Baranov AA<sup>2</sup>, Shubin LB<sup>2</sup>, Bagryantsev VA<sup>2</sup>, Bagryantseva OV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia

<sup>2</sup> Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russia

Contemporary prosthetic dentistry has a vast arsenal of solutions for completely edentulous patients. However, it is crucial to consider a variety of factors that can cause complications in patients wearing temporary dentures in the osseointegration period. The aim of this study was to retrospectively analyze the medical records of completely edentulous patients wearing temporary removable or fixed dentures in the osseointegration period, to identify the risk factors for complications and to calculate the odds of adverse events. We performed a multivariate analysis and developed a computerized algorithm that could be used to facilitate selection of the proper denture type and material. The algorithm demonstrates high sensitivity and specificity: 94.37 (76.2 : 98.7) and 92.56 (79.8 : 97.6), respectively; the AUC value is 0.921 (0.843 : 0.963). We are planning to develop a software based on the proposed algorithm that would help the dentist to make a more objective decision when selecting the type of temporary denture and its material.

**Keywords:** dental implants, osseointegration, temporary prosthesis, risks, odds, computer-based model

**Author contribution:** Bagryantseva NV — study design, data acquisition, analysis and interpretation, manuscript editing; Gazhva SI — study planning and manuscript editing; Baranov AA — manuscript editing; Shubin LB — data analysis and interpretation; Bagryantsev VA, Bagryantseva OV — data acquisition and preparing the manuscript draft.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Privolzhsky Research Medical University (Protocol № 10 dated December 25, 2017).

✉ **Correspondence should be addressed:** Natalia V. Bagryantseva  
March 8, d. 1, kor. 2, kv. 71, Yaroslavl, 150002; nbogryanceva@mail.ru

**Received:** 25.07.2019 **Accepted:** 09.08.2019 **Published online:** 16.08.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.050

На сегодняшний день операции с использованием имплантатов распространены во всем мире и позволяют получать хорошие долгосрочные результаты [1, 2]. Стоматологи могут прогнозировать окончательный результат еще до лечения. После проведения дентальной имплантации на всех этапах лечения оправдано использование протезов временной конструкции. Для временного протезирования могут быть использованы

съемные и условно-съемные конструкции протезов из различных материалов [3].

Вместе с тем подходы к тактике временного зубного протезирования на момент остеоинтеграции после установки дентальных имплантатов при ведении пациентов с полным отсутствием зубов не однозначны [4]. Анализ имеющейся литературы показал, что необходимо уделить особое внимание адекватному построению алгоритма выбора конструкции

и разработать математически выверенный подход к реабилитации пациентов с полным отсутствием зубов [2]. Это позволит снизить риски неблагоприятных исходов и осложнений, способствуя повышению качества жизни пациентов.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Был проведен ретроспективный анализ медицинской документации ГБУЗ ЯО «Ярославская областная стоматологическая поликлиника» г. Ярославля. Изучали данные медицинских карт стоматологического больного (форма 043/у) и дневник учета работы стоматолога-ортопеда (форма N 039-4/у) за период 2015–2019 гг. Критерии включения пациентов в исследование: пациенты любого пола и возраста; наличие у пациента вторичной адентии. Критерии исключения: наличие экзостозов, онкологических заболеваний, нарушений свертываемости крови; наличие соматической патологии в стадии декомпенсации. При отборе учитывали обстоятельства, при которых были потеряны зубы, наличие жалоб, план лечения и вид временного протеза, выбранный на момент остеointеграции дентальных имплантатов. Отдельно учитывали материал, из которого изготовлен протез. Результаты регистрировали в многоходовых таблицах с последующей кодировкой. Всего было изучено 102 медицинских карты и 1 дневник работы стоматолога-ортопеда. У всех 102 пациентов была диагностирована полная или частичная вторичная адентия. Из них у 34 пациентов зубы потеряны полностью, а у 68 пациентов еще оставались подвижные зубы или корни разрушенных зубов, которые впоследствии удаляли, и пациентов включали в группу с диагнозом «полная вторичная адентия». Установлено, что всем 102 пациентам было проведено ортопедическое лечение с применением дентальных имплантатов и последующим временным протезированием. Учитывая цель работы, пациенты были разделены на две группы: в первую вошли те, у кого протезирование прошло успешно, а во вторую включили пациентов, у которых развились те или иные осложнения на момент остеointеграции дентальных имплантатов. Численность групп составила 73 и 29 человек соответственно. Всем пациентам трижды проводили рентгенологическое исследование на ортопантомографе Strato 2000d (Villa Sistemi Medicali; Италия) для оценки состояния костной ткани вокруг имплантата, а также степени его остеointеграции. Для уточнения данных использовали прицельную рентгенограмму на радиовизиографе EzSensor (Vatech; Южная Корея). Некоторым пациентам перед операцией проводили компьютерную томографию на томографе Brilliance 64 (Philips; Голландия).

Анализ состояния атрофии и качества костной ткани осуществляли в соответствии с основными классификациями типов костной ткани в зависимости от плотности и структуры челюстей по классификации Лехольма и Зарба [5]. Оценку состояния слизистой

оболочки полости рта проводили, опираясь на классическую классификацию Суппле (табл. 1). Фиксировали наличие сопутствующих заболеваний и вредных привычек (курение).

Статистический анализ данных проводили с помощью программ Statistica версии 12, 2014 г. (StatSoft Inc., США) и MedCalc Statistical Software версии 18.2.1, 2018 г. (MedCalc Software bvba; Ostend, Бельгия). С их помощью оценивали факторы риска и шансы реализации с вычислением 95%-го доверительного интервала. Выделенные переменные с высоким показателем шансов их реализации легли в основу первичного материала для многомерного статистического моделирования. Модели создавали в парадигме регрессионного оценивания, а именно процедурой логистической регрессии. Качество созданных моделей оценивали с помощью анализа характеристических кривых (receiver operator characteristic, или ROC-анализа).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Первичный анализ показал, что характер осложнений, возникающих после установки временных конструкций на период остеointеграции имплантатов, довольно разнообразен. Частотное распределение случившихся осложнений в сформированных группах было следующим. Общее количество осложнений оказалось равным 29 (28% от общего количества наблюдений). Наиболее распространенной (34%) была тяжелая адаптация пациентов к полным съемным покрывным протезам, которую мы оценивали как осложнение. Следующими по частоте встречаемости стали мукозиты и переломы съемных покрывных протезов (по 20% каждый). На третьем месте (с частотой по 10%) были периимплантиты и аллергические реакции на мономер пластмассы, из которой изготавливали протезы. В 3% случаев возникали галитоз и нарушение стабильности имплантата.

После того как было проведено сравнительное оценивание двух групп (первой, в которой протезирование прошло успешно, и второй, в которой у пациентов развились те или иные осложнения) по учитываемым параметрам, было сформировано представление о математическом разложении достоверно различающихся частот. Изучение риска развития осложнений у пациентов с полной вторичной адентией и потребностью во временном протезировании на момент остеointеграции установленных дентальных имплантатов проводили с оценкой вероятности того, что событие произойдет, в частности может развиваться то или иное осложнение. Мы оценивали факторы риска как экспозицию, повышающую вероятность возникновения осложнения. Рассчитывали релятивистские риски как отношение частоты неблагоприятных исходов (факт развития осложнения) среди исследуемой группы, на вероятность развития которых оказывал влияние изучаемый фактор, к частоте возникновения осложнений среди исследуемых

**Таблица 1.** Классификация слизистой оболочки протезного ложа по Суппле

1 класс	Идеальный рот	Хорошо выраженные альвеолярные отростки, покрытые слегка податливой слизистой оболочкой, бледно-розового цвета, без патологических процессов
2 класс	Твердый рот	Атрофированная, плотная, сухая слизистая оболочка, места прикрепления складок несколько ближе к гребню альвеолярного отростка, чем при 1 классе
3 класс	Мягкий рот	Гипертрофированная рыхлая слизистая оболочка, альвеолярные отростки низкие
4 класс	Болтающийся гребень	Имеются подвижные тяжи слизистой оболочки, расположенные продольно и легко смещающиеся при незначительном давлении отпечаточной массы, тяжи могут быть ущемлены

в контрольной группе. Из всего набора переменных в результате статистического анализа осталось лишь шесть: степень атрофии кости челюстей по классификации Лехольма и Зарба групп C, D, E; качество плотности кортикального и губчатого вещества кости класса III, IV по той же классификации; состояние слизистой оболочки полости рта типов 3, 4 по классификации Суппле; наличие аллергии на мономер пластмассы; плохое соблюдение гигиены полости рта и наличие вредных привычек (табл. 2).

Помимо этого, нами проведено изучение отношения шансов (ОШ). Шансы рассматривали как отношение вероятности того, что событие произойдет, к вероятности того, что событие не произойдет, или отношение вероятности действительного к вероятности недействительного, с целью оценки связи между фактом развития осложнения и фактором риска. При оценке ОШ установлено, что все выделенные ранее факторы риска имели достоверные вероятности реализации. Однако для нескольких

факторов, а именно степени атрофии кости челюстей по классификации Лехольма и Зарба и состояния слизистой оболочки полости рта по классификации Суппле, шансы их реализации были неравнозначны. Так, степень атрофии была представлена тремя вероятностными состояниями, соответствующими пунктам C, D, E классификатора, а состояние слизистой — типам 3 и 4 [2, 6, 7] (табл. 3).

Учитывая полученные результаты, в оценке рисков при выборе вида временного протеза (ВВрП) на этапе остеоинтеграции имплантатов и шансов их реализации в различные этапы проводимого лечения, с целью повышения точности предсказательных оценок, было принято решение прибегнуть к процедуре многомерного статистического моделирования. С помощью логистической регрессии поставленная задача анализа связи между несколькими независимыми переменными и параметром отклика была успешно решена. Также было определено взаимное влияние признаков и вклад каждого на групповое

**Таблица 2.** Релятивистские риски возникновения осложнений при временном протезировании

Фактор риска	Релятивистский риск	"—" 95% ДИ	"+" 95% ДИ
Степень атрофии C, D, E	1,7997	0,5518	2,1929
Качество кости III, IV	0,9858	0,4542	2,2258
Состояние слизистой 3, 4	1,3947	0,5566	2,2588
Аллергия +	0,8716	0,3044	2,2069
Плохая гигиена +	0,7891	0,2391	1,9864
Курение +	0,5333	0,2593	2,6781

**Таблица 3.** Отношения шансов возникновения осложнений при временном протезировании

Фактор риска	Отношение шансов	"—" 95% ДИ	"+" 95% ДИ
Степень атрофии C	1,8879	0,1518	2,2854
Степень атрофии D	1,5858	0,1542	2,2546
Степень атрофии E	1,2845	0,1566	2,2588
Состояние слизистой 3	1,2143	0,2044	2,2608
Состояние слизистой 4	1,1947	0,2721	1,9864
Аллергия +	0,8333	0,2593	2,6781
Плохая гигиена +	0,6891	0,2694	1,8871
Курение +	0,4222	0,2443	2,5398

**Таблица 4.** Характеристики регрессионной модели для ВВрП

Показатели	ВВрП
Уровень значимости	$p = 0,001$
Коэффициент детерминации Cox & Snell $R^2$	0,834
Коэффициент детерминации Nagelkerke $R^2$	0,758
Тест Hosmer & Lemeshow — значимость	$p = 0,594$
Коэффициент конкордации	0,8946

**Таблица 5.** Стандартизованные регрессионные коэффициенты модели для ВВрП

Переменная	Коэффициент	Стандартная ошибка	Статистика Вальда
Степень атрофии	-2,13953	0,40234	0,1203
Качество кости	3,58284	0,47428	11,1382
Состояние слизистой	-1,85714	0,83806	11,6227
Аллергия	3,46292	0,44173	10,968
Плохая гигиена	1,55758	0,41697	13,954
Курение	0,056017	0,070499	0,6314
Constant	-8,64908	85,2702	0,01029

разделение. Результаты моделирования представлены в табл. 4.

Созданная модель имеет высокую степень значимости. Значения обоих регрессионных коэффициентов детерминации  $R^2$  оказались достаточно большими. Это позволяет предположить, что ее предсказательная устойчивость сравнительно высока. Подобное заключение также подтверждает вычисленный коэффициент конкордации. С помощью критерия Хосмера–Лемешова оценивали качество подгонки, сравнивая наблюдаемые частоты и расчетные. В нашем случае (хорошего согласия) имеем для этой статистики уровень значимости более 5%. Стандартизованные регрессионные коэффициенты, включенные в модель, отражают все этапы, обозначенные

в алгоритме. Ими стали переменные, представленные в табл. 5.

По результатам моделирования было составлено уравнение логистической регрессии, которое в общем виде выглядело следующим образом:

$$\Phi = c + k_1x_1 + k_2x_2 + \dots + k_nx_n,$$

где  $\Phi$  — зависимая переменная;  $c$  — константа;  $k_i$  — коэффициенты регрессионной функции;  $x_i$  — предикторы, переменные.

С целью оценки построенной модели при проведении логистической регрессии и вычислении индивидуальных решений ее уравнения использовали графический

Таблица 6. Операционные характеристики модели для ВВрП

Показатель	ВВрП
Площадь под кривой ROC (AUC)	0,921
Среднеквадратическая ошибка <sup>a</sup>	0,0524
–95% ДИ (AUC)	0,873
+95% ДИ (AUC)	0,963
z-статистика	9,645
Уровень значимости $p$ (площадь = 0,5)	0,001
Индекс Юдена J	0,8284
Ассоциативный критерий	$\leq 1,43$
Чувствительность	94,37
–95% ДИ (Se)	76,2
+95% ДИ (Se)	98,7
Специфичность	92,56
–95% ДИ (Sp)	79,8
+95% ДИ (Sp)	97,6
+Отношение правдоподобия (+LR)	7,31
–95% ДИ (+LR)	2,5
+95% ДИ (+LR)	21,4
–Отношение правдоподобия (–LR)	0,18
–95% ДИ (–LR)	0,08
+95% ДИ (–LR)	0,4
+Прогностическая ценность (+PV)	89,9
–95% ДИ (+PV)	75,3
+95% ДИ (+PV)	96,3
–Прогностическая ценность (–PV)	82,2
–95% ДИ (–PV)	67,2
+95% ДИ (–PV)	91,3

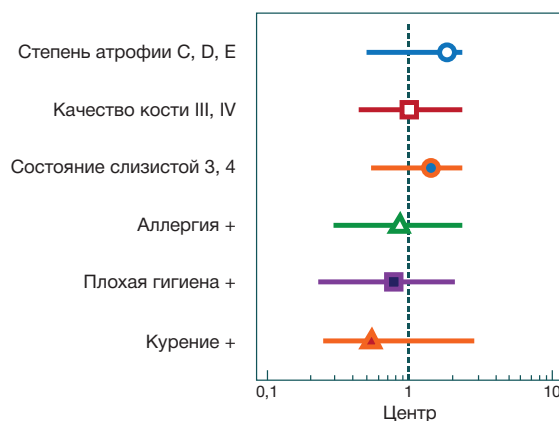


Рис. 1. Форест-диаграмма факторов риска вероятности осложнений при временном протезировании



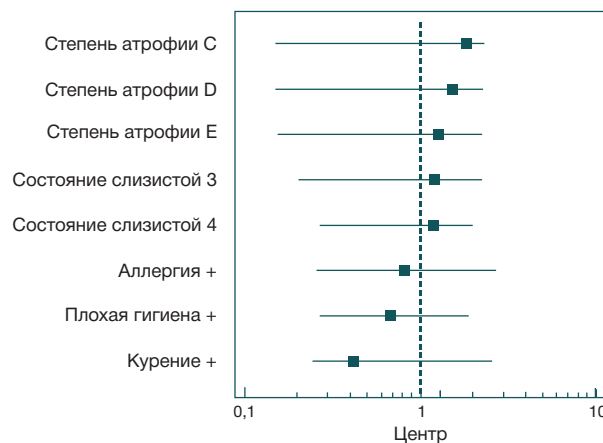


Рис. 2. Форест-диаграмма отношения шансов для факторов риска вероятности осложнений при временном протезировании

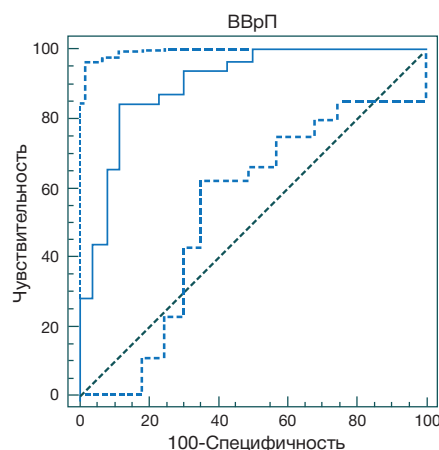


Рис. 3. ROC-кривая предсказательной модели для ВВрП

анализ и специальные формулы расчета оптимального значения величины порога отсечения — ROC-анализ. При этом вычисляли такие операционные характеристики метода, как площадь под кривой (AUC), индекс Юдена (Youden), ассоциативный критерий (optimal cut-off value), чувствительность и специфичность, положительное и отрицательное отношения правдоподобия (LR), положительные и отрицательные предиктивные уровни (PV) с определением 95%-х доверительных интервалов для каждого показателя (табл. 6).

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Из выделенных факторов риска ведущее место занимает качество плотности кортикального и губчатого вещества кости класса III, IV по классификации Лехольма и Зарба, что неудивительно, так как результат процедуры установки временного протеза напрямую зависит от этого. Далее следует наличие или отсутствие аллергии на мономер — от них зависит выбор материала, из которого изготавливают временный протез. Третьим по значимости фактором риска стала степень атрофии кости при оценке по классификации Лехольма и Зарба. Состояние слизистой оболочки полости рта 3-го и 4-го типов оказалось на четвертом месте. Помимо этого, факторами риска развития осложнений при проведении временного протезирования на момент остеоинтеграции установленных имплантатов оказались плохая гигиена полости рта и курение [2, 4]. На рис. 1 представлена форест-диаграмма распределения названных факторов риска.

При интерпретации результатов анализа ОШ реализоваться в осложнения при временном протезировании на момент остеоинтеграции дентальных имплантатов на беззубых челюстях в порядке убывания их вероятностей реализоваться представлены были следующие переменные: состояние слизистой оболочки 4-го типа по классификации Суппле, наличие аллергических реакций на мономер пластмассы протеза, состояние слизистой оболочки 3-го типа, степени атрофии кости челюстей E и D, плохая гигиена полости рта, степени атрофии кости челюстей C и последнее место занимало курение. На рис. 2 представлена форест-диаграмма распределения названных ОШ.

Принимая во внимание полученные значения операционных характеристик модели, можно утверждать о применимости автоматизированного алгоритма для выбора способа временного протезирования. Цифры чувствительности и специфичности в верхних пределах их доверительных интервалов находятся на высоком уровне, при этом абсолютные значения так же высоки. Положительное отношение правдоподобия фактически в семь раз выше отрицательного, положительная прогностическая ценность также превышает отрицательную. Все это говорит об устойчивости модели в целом и подтверждается величиной площади под кривой, равной 0,921, представленной на рис. 3 [8, 9].

#### ВЫВОДЫ

1. Первым шагом в выборе оптимальной временной конструкции для реабилитации пациентов с полным отсутствием зубов с помощью покрывных съемных

протезов или условно-съемных протезов на верхней и нижней челюстях с опорой на дентальные имплантаты на момент их остеоинтеграции является определение степени атрофии костей челюстей и плотности кортикального и губчатого вещества. 2. Непременным условием снижения риска возникновения осложнений является адекватность оценки состояния слизистой оболочки полости рта. 3. При плохой гигиене полости рта и курящему пациенту

лучше предложить покрывной съемный протез. 4. При отсутствии аллергии на пластмассу и хорошей гигиене полости рта временные протезы могут быть изготовлены из любого вида пластмасс. 5. С учетом автоматизации поэтапного алгоритма может быть создана компьютерная программа для повышения степени объективизации в выборе способа временного протезирования и материала протеза.

## Литература

1. McRory ME, Cagna DR. A technique for fabricating single screw-retained implant-supported interim crowns in conjunction with implant surgery. *J Prosthet Dent.* 2014 Jun; 111 (6): 455–9. PubMed PMID: 24461941. DOI: 10.1016/j.prosdent.2013.11.005.
2. Aghaloo T, Pi-Anfruns J, Moshaverinia A, et al. The Effects of Systemic Diseases and Medications on Implant Osseointegration: A Systematic Review. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2019 Suppl; (34): 35–49. PubMed PMID: 31116832. DOI: 10.11607/jomi.19suppl.g3.
3. Parvini P, Saminsky M, Stanner J, et al. Discomfort/pain due to periodontal and peri-implant probing with/without platform switching. *Clin Oral Implants Res.* 2019 Jul 20. PubMed PMID: 31325382. DOI: 10.1111/clr.13513.
4. Radzewski R, Osmola K. Osseointegration of Dental Implants in Organ Transplant Patients Undergoing Chronic Immunosuppressive Therapy. *Implant Dent.* 2019 Jul 12. PubMed PMID: 31306295 DOI: 10.1097/ID.0000000000000916.
5. Lekholm U, Zarb G. *Tissue-Integrated Prostheses Osseointegration in Clinical Dentistry.* Chicago: Quintessence publishing, 1985; 199–210.
6. Hu Z, Wang X, Xia W, et al. Nano-Structure Designing Promotion Osseointegration of Hydroxyapatite Coated Ti-6Al-4V Alloy Implants in Diabetic Model. *J Biomed Nanotechnol.* 2019 Aug 1; 15 (8): 1701–13. PubMed PMID: 31219019. DOI: 10.1166/jbn.2019.2812.
7. Mangano FG, Iezzi G, Shibli JA, et al. Early bone formation around immediately loaded implants with nanostructured calcium-incorporated and machined surface: a randomized, controlled histologic and histomorphometric study in the human posterior maxilla. *Clin Oral Investig.* 2017 Nov; 21 (8): 2603–11. PubMed PMID: 28154996. DOI: 10.1007/s00784-017-2061-y.
8. Широков И. Ю. Экспериментальное обоснование применения временных несъемных зубных протезов при дентальной имплантации [диссертация]. М., 2013.
9. Робакидзе Н. С., Лобановская А. А., Пекарчик Д. М. Применение временных протезных конструкций в период остеоинтеграции внутрикостных имплантатов. *Институт стоматологии.* 2016; (2): 78–9.

## References

1. McRory ME, Cagna DR. A technique for fabricating single screw-retained implant-supported interim crowns in conjunction with implant surgery. *J Prosthet Dent.* 2014 Jun; 111 (6): 455–9. PubMed PMID: 24461941. DOI: 10.1016/j.prosdent.2013.11.005.
2. Aghaloo T, Pi-Anfruns J, Moshaverinia A, et al. The Effects of Systemic Diseases and Medications on Implant Osseointegration: A Systematic Review. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2019 Suppl; (34): 35–49. PubMed PMID: 31116832. DOI: 10.11607/jomi.19suppl.g3.
3. Parvini P, Saminsky M, Stanner J, et al. Discomfort/pain due to periodontal and peri-implant probing with/without platform switching. *Clin Oral Implants Res.* 2019 Jul 20. PubMed PMID: 31325382. DOI: 10.1111/clr.13513.
4. Radzewski R, Osmola K. Osseointegration of Dental Implants in Organ Transplant Patients Undergoing Chronic Immunosuppressive Therapy. *Implant Dent.* 2019 Jul 12. PubMed PMID: 31306295 DOI: 10.1097/ID.0000000000000916.
5. Lekholm U, Zarb G. *Tissue-Integrated Prostheses Osseointegration in Clinical Dentistry.* Chicago: Quintessence publishing, 1985; 199–210.
6. Hu Z, Wang X, Xia W, et al. Nano-Structure Designing Promotion Osseointegration of Hydroxyapatite Coated Ti-6Al-4V Alloy Implants in Diabetic Model. *J Biomed Nanotechnol.* 2019 Aug 1; 15 (8): 1701–13. PubMed PMID: 31219019. DOI: 10.1166/jbn.2019.2812.
7. Mangano FG, Iezzi G, Shibli JA, et al. Early bone formation around immediately loaded implants with nanostructured calcium-incorporated and machined surface: a randomized, controlled histologic and histomorphometric study in the human posterior maxilla. *Clin Oral Investig.* 2017 Nov; 21 (8): 2603–11. PubMed PMID: 28154996. DOI: 10.1007/s00784-017-2061-y.
8. Shirokov IYu. *Jeksperimental'noe obosnovanie primenenija vremennyh nes#emnyh zubnyh protezov pri dental'noj implantacii* [dissertacija]. M., 2013.
9. Robakidze NS, Lobanovskaya AA, Pekarchik DM. *Primenenie vremennyh proteznyh konstrukcij v period osteointegracii vnutrikostnyh implantatov.* Institut stomatologii. 2016; (2): 78–9.

## ВИЗУАЛИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ХИМИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МАТЕРИАЛА, БИОКОМПОЗИТА И ТКАНИ ЗУБА НА ОСНОВЕ СИНХРОТРОННОЙ ИК-МИКРОСПЕКТРОСКОПИИ

Д. Л. Голощапов<sup>1</sup>, В. М. Кашкаров<sup>1</sup>, Ю. А. Ипполитов<sup>2</sup>, И. Ю. Ипполитов<sup>2</sup>, Jitraporn Vongsvivut<sup>3</sup>, П. В. Середин<sup>1</sup>✉<sup>1</sup> Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия<sup>2</sup> Воронежский государственный медицинский университет имени Н. Н. Бурденко, Россия<sup>3</sup> Австралийский синхротрон, Мельбурн, Австралия

В реставрационной стоматологии остается актуальной проблема низкого сродства композиционных материалов с нативной твердой тканью зуба. Целью работы было исследовать молекулярно-химические особенности формирования интерфейса стоматологический материал — биомиметический буферный слой — твердая ткань зуба человека. С применением метода молекулярной многомерной ИК-визуализации на 7 плоскопараллельных сегментах образцов был выполнен анализ участка интерфейса здоровая твердая ткань (эмаль/дентин) — биомиметический переходной слой — стоматологический материал/адгезивный, созданный с использованием нового поколения биомиметических материалов, воспроизводящих минералорганический комплекс эмали и дентина зубов человека, с нативными твердыми тканями зуба человека и стоматологическим цементом. Данные спектральной молекулярной визуализации, полученные на основе синхротронного ИК-картирования интенсивности функциональных молекулярных групп, позволили нам обнаружить и визуализировать различия между здоровой тканью, стоматологическим материалом и биомиметическим переходным слоем в межфазных областях (интерфейсах), а также определить локализацию и концентрацию функциональных групп, отвечающих процессам интеграции биомиметического композита и нативной твердой ткани зубов человека. Показано, что разработанная нами биомиметическая система на основе нанокристаллического карбонат-замещенного гидроксиапатита кальция, полученного из биогенного источника кальция и комплекса основных полярных аминокислот, соответствующих органоминеральному комплексу зубов человека, способна образовывать функциональную связь с твердой тканью зуба человека.

**Ключевые слова:** биомиметические материалы, нативная твердая ткань зуба человека, ИК-микроспектроскопия, синхротронное излучение**Финансирование:** исследование выполнено при поддержке гранта Российского Научного Фонда № 16-15-00003.**Благодарности:** часть этого исследования была проведена с использованием канала Инфракрасной микроскопии (IRM) на Австралийском синхротроне.**Информация о вкладе авторов:** Д. Л. Голощапов — планирование исследования, анализ литературы; сбор, анализ и интерпретация данных; В. М. Кашкаров — сбор, анализ, интерпретация данных; Ю. А. Ипполитов — планирование исследования, подготовка образцов, сбор и анализ данных; И. Ю. Ипполитов — подготовка образцов; Jitraporn Vongsvivut — проведение эксперимента; П. В. Середин — планирование исследования, анализ литературы, сбор, анализ, интерпретация данных, проведение эксперимента.**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этической комиссией Воронежского государственного университета (протокол № 2019/3/1 от 04 марта 2019 г.).✉ **Для корреспонденции:** Павел Владимирович Середин  
Университетская пл., 1, г. Воронеж, 394018; paul@phys.vsu.ru**Статья получена:** 18.07.2019 **Статья принята к печати:** 31.07.2019 **Опубликована онлайн:** 01.08.2019**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.047

## SYNCHROTRON IR-MICROSPECTROSCOPY-BASED VISUALIZATION OF MOLECULAR AND CHEMICAL INTERACTIONS BETWEEN DENTAL CEMENT, BIOMIMETIC COMPOSITE AND NATIVE DENTAL TISSUE

Goloshchapov DL<sup>1</sup>, Kashkarov VM<sup>1</sup>, Ippolitov YuA<sup>2</sup>, Ippolitov IYu<sup>2</sup>, Jitraporn Vongsvivut<sup>3</sup>, Seredin PV<sup>1</sup> ✉<sup>1</sup> Voronezh State University, Voronezh, Russia<sup>2</sup> Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia<sup>3</sup> Australian Synchrotron, Melbourne, Australia

The low affinity of composite materials for the hard tissue of human teeth poses a challenge to restorative dentists. This study was undertaken to explore molecular and chemical characteristics of the interface between the dental cement, the buffer layer formed from a next generation biomimetic material that mimics the organic mineral composition of human enamel and dentin, and the intact native hard dental tissue. Seven plane-parallel dental slices were analyzed using synchrotron IR microspectroscopy. The obtained absorption spectra of functional molecular groups were organized into cluster maps. This allowed us to identify the intact tissue, the adhesive agent and the biomimetic layer at their interface and to localize and measure concentrations of functional groups involved in the integration of the biomimetic composite into the hard tissue of the human tooth. The proposed biomimetic material is based on nanocrystal carbonate-substituted calcium hydroxyapatite synthesized from a biogenic calcium source and a complex of basic polar amino acids copying the composition of the human tooth and can form a functional bond with hard dental tissue.

**Keywords:** biomimetic materials, native human tooth hard tissue, IR microspectroscopy, synchrotron radiation**Funding:** the study was supported by the Russian Science Foundation (Grant 16-15-00003).**Acknowledgment:** IR microspectroscopy was conducted at the Australian Synchrotron.**Author contribution:** Goloshchapov DL planned the study, analyzed the literature, collected and interpreted the obtained data; Kashkarov VM collected, analyzed and interpreted the obtained data; Ippolitov YuA planned the study, prepared the samples, collected and analyzed the data; Ippolitov IYu prepared the samples; Jitraporn Vongsvivut conducted IR microspectroscopy; Seredin PV planned the study, analyzed the literature, collected, analyzed and interpreted the obtained data, and conducted IR microspectroscopy.**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Voronezh State University (Protocol № 2019/3/1 dated March 4, 2019).✉ **Correspondence should be addressed:** Pavel V. Seredin  
Universitetskaya pl.1, Voronezh, 394018; paul@phys.vsu.ru**Received:** 18.07.2019 **Accepted:** 31.07.2019 **Published online:** 01.08.2019**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.047

Современные композиционные материалы и бонды, применяемые в реставрационной стоматологии, несмотря на высокие показатели адгезии и прочности имеют низкое сродство с нативной твердой тканью зуба по химическому составу и морфологической организации [1, 2]. Несоответствие по физико-химическим характеристикам искусственных материалов эмали и дентину зубов инициирует поиск новых композиционных соединений для реставрационной стоматологии [2, 3]. Одновременно с решением этой задачи ведется активный поиск способов улучшения интерфейса между используемыми стоматологическими материалами и твердой тканью зуба за счет новых бондинговых систем и буферных слоев, имеющих гибридный состав и позволяющих повысить долговечность реставрации [3–5]. Актуальными вопросами здесь становятся способы формирования химической связи композит/бонд/нативные ткани зуба [6].

Наилучшим решением задач формирования качественного интерфейса синтетический материал-эмаль/дентин стало создание биомиметического композита, имитирующего состав, структуру (в том числе наноструктуру) твердых тканей зуба [7–9]. Хорошо известно, что введение в состав биокомпозита аналога апатита эмали — нанокристаллического гидроксиапатита кальция (ГАП) с различной дефектной структурой позволяет улучшить интеграцию синтетических материалов [5, 10]. В то же время включение в состав биокомпозитов ряда полярных аминокислот эмалевого матрикса [11–14] позволяет создать имитацию биомиметическим материалом конкретного типа участка эмали или дентина зуба человека и улучшить адгезивные и прочностные характеристики [12, 15].

В свою очередь, оценка интеграции бонда с тканями зубов, а также анализ формирования интерфейса адгезив/эмаль, адгезив/дентин могут быть проведены комплексом методов, среди которых выделяют инфракрасную Фурье спектроскопию (FTIR). Данный неразрушающий метод позволяет изучить молекулярное строение и тонкие структурные свойства объектов биологического происхождения на основе анализа присутствующих в ИК-спектрах молекулярных колебательных полос, специфичных для конкретного химического вещества [16]. С его помощью можно исследовать механизмы молекулярных превращений в биомиметических материалах [17, 18], стоматологических адгезивах [19], получить обширные и разнообразные сведения о молекулярном составе тканей зубов человека [6] и регистрировать новообразованные минеральные фазы [20]. Одновременно с этим включение в измерительную схему микроскопа, а также использование источника синхротронного излучения при исследовании биологических объектов позволяют собрать большие массивы спектров с микрообласти образца [17]. На основе собранного набора спектров появляется возможность сформировать ИК-микроспектроскопическое изображение объекта, одновременно богатое различной информацией о молекулярных связях в составе образца и их пространственном распределении.

Целью работы стало исследование молекулярно-химических особенностей формирования интерфейса стоматологический материал — биомиметический буферный слой — твердая ткань зуба человека на основе многомерной визуализации данных синхротронной ИК-микроспектроскопии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Подготовка материалов

Для получения биомиметических модельных материалов использовали описанную [21] родственную систему, содержащую: гиалуроновую кислоту (0,01–0,05 wt. %), L-гистидин (0,01–0,2 wt. %), L-лизин гидрохлорид (0,05–0,4 wt. %), L-аргинин гидрохлорид (0,2–1,6 wt. %), а также метиловый эфир этиленгликоля (30–85 wt. %), диглицидилдиметакрилат (1–15 wt. %), уретандиметакрилат (1–15 wt. %), спирт этиловый (2–20 wt. %) и воду (остальное). Выполненное исследование оптических и эмиссионных свойств предложенного биокомпозита, содержащего перечисленные аминокислоты, показало сродство свойств этого материала со свойствами, проявляемыми нативной эмалью и дентином [22]. Для формирования высокотропной к нативным тканям зуба среды в данную систему был добавлен синтетический карбонат-замещенный гидроксиапатит кальция (КГАП) в соотношении 1 мл смеси — 0,01 г КГАП, соответствующий по совокупному ряду характеристик апатиту эмали и дентина зуба человека [20].

Для фиксации описанной буферной системы использовали универсальный адгезив для биоактивной бондинговой системы, эффективно связывающийся с разработанными коммерческими материалами [23]. В данный универсальный адгезив для улучшения тропности добавили полученный в данной работе КГАП в соотношении 1 мл адгезива — 0,01 г КГАП. Смешивание компонента ГАП с составляющими буферной системы и адгезива осуществляли с использованием ультразвукового гомогенизатора QSonica 55 (QSonica; CUSA) в течение 30 с.

Интеграцию буферных слоев на основе биокомпозиционных материалов изучали на образцах зубов, удаленных у пациентов в возрасте 18–45 лет по ортодонтическим показаниям. Препарирование зубов и нанесение биомиметической буферной системы выполняли по следующей схеме.

На первом этапе проводили препарирование эмали и дентина с помощью микромоторного воздушного наконечника при скорости вращения стального шаровидного бора из легированной вольфрамом-ванадиевой стали 4000 об./мин и водяным охлаждением для предотвращения перегрева зубного матрикса. Формирование полости под пломбу осуществляли до дентина с доводкой при малой скорости вращения. Сформированную полость промывали и высушивали потоком воздуха от компрессора.

На втором этапе осуществляли травление эмали в течение 60 с, используя гель для травления эмали на основе 37%-й фосфорной кислоты, с последующим ополаскиванием водой и сушкой потоком воздуха. Далее производили обработку дентина с использованием дентин-кондиционера [21] на основе смеси гиалуроновой кислоты (0,01–0,05 wt. %), L-гистидина (0,01–0,2 wt. %), L-лизина гидрохлорида (0,05–0,4 wt. %), L-аргинина гидрохлорида (0,2–1,6 wt. %), в течение 20–30 с, после чего осуществляли сушку поверхности полости.

На третьем этапе полученную в данной работе биокомпозиционную буферную систему равномерно распределяли в стенки сформированной полости и после 20 с высушивали с помощью воздушного компрессора. На подготовленную таким образом полость на поверхность буферного слоя наносили универсальный



светоотверждаемый адгезив, содержащий КГАП, который подвергали последующей предварительной фотополимеризации в течение 20 с.

На заключительном четвертом этапе по истечении 1 мин на сформированный биомиметический буферный слой наносили коммерческий компомерный реставрационный материал, содержащий компоненты адгезива.

Учитывая требования методики исследования (ИК-микроспектроскопии) к геометрии образцов, мы подготовили плоскопараллельные сегменты образцов отреставрированных зубов, аналогично тем, которые были исследованы ранее [24].

В работе было изучено 7 плоскопараллельных сегментов образцов, приготовленных непосредственно перед исследованием.

### Методика исследования образцов

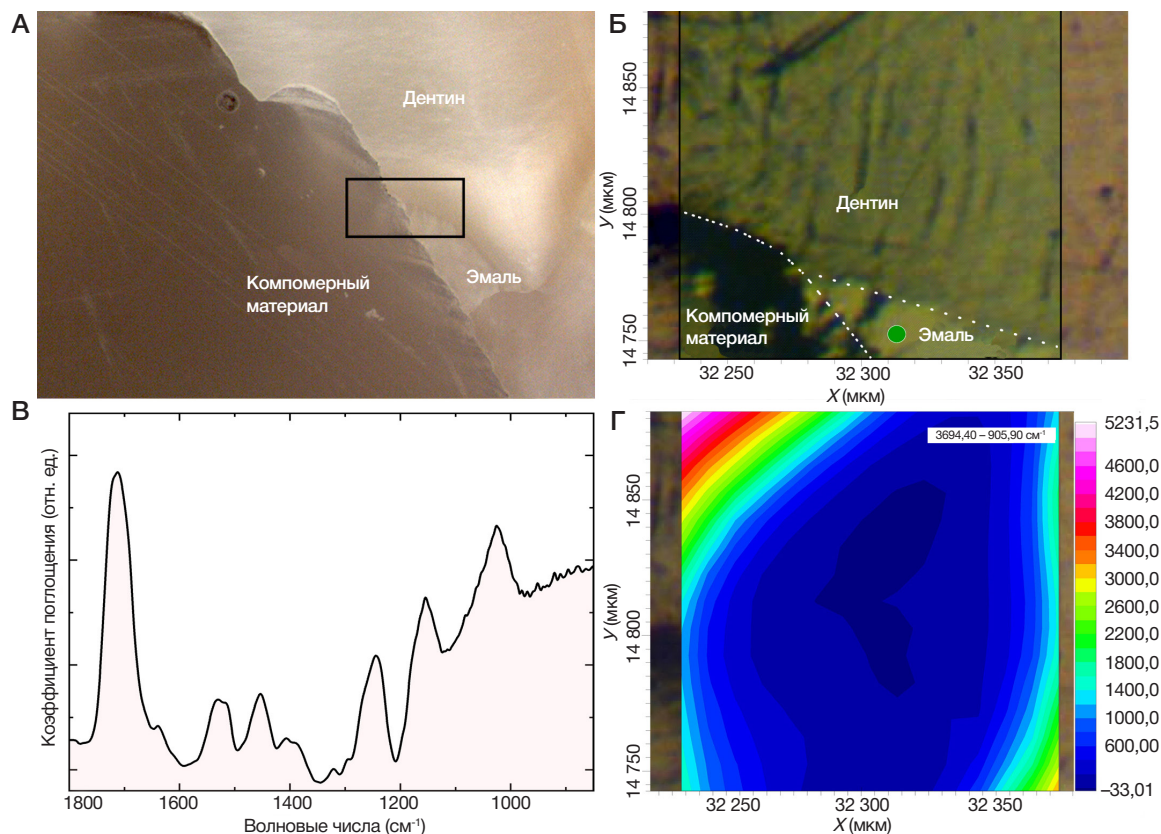
Молекулярный состав образцов, а также области интерфейса стоматологический материал — биомиметический буферный слой — нативная твердая ткань зуба человека изучали с использованием синхротронной ИК-микроспектроскопии, с применением методики нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО). Исследование проводили на оборудовании канала инфракрасной микроспектроскопии (IRM) Австралийского синхротрона (Мельбурн, Австралия), имеющего в своем составе ИК-микроскоп Hyperion 3000 (Bruker; США) и приставку НПВО с германиевой призмой (Мельбурн, Австралия) [17]. На рис. 1А, Б выделенной прямоугольной областью показано изображение исследуемого участка интерфейса, от которого были получены ИК-спектры поглощения в области от 3800–700  $\text{см}^{-1}$  (рис. 1В).

С использованием возможностей ИК-микроскопа и программного комплекса OPUS 7.5 (Bruker; США) на участке образца размером 100×100 мкм (рис. 1Б) с шагом 2 мкм получили совокупность ИК-спектров (выполнили молекулярное картирование), в результате чего построили одномерные ИК-изображения (ИК-карты) на основе цветового кодирования интенсивностей полос поглощения ИК-спектров (рис. 1Г). Синим цветом закодирована самая низкая интенсивность поглощения молекулярной группой, выбранной для картирования, в то время как красным показана самая высокая. Данные карты показывают распределение интенсивности молекулярной группы, а следовательно, ее концентрации в конкретной точке исследуемого образца.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе исследования участка межфазной границы (рис. 1Б) между светоотверждаемым стоматологическим материалом, биомиметическим композитом, а также эмалью и дентином зуба был идентифицирован набор основных колебательных мод в ИК-спектре (рис. 1В), которые могут выступать в роли спектроскопических сигнатур, отвечающих веществам, присутствующим в области интеграции.

Наиболее интенсивная полоса в ИК-спектре, расположенная в области 1163–981  $\text{см}^{-1}$ , принадлежит к группе  $\text{PO}_4$  минеральной составляющей апатита эмали и дентина [22]. Следующая группа полос в ИК-спектре от 1700 до 1100  $\text{см}^{-1}$  относится к колебаниям протеинов, входящих в состав органической составляющей эмали/дентина, а также соединениям биомиметического композита (см. методику подготовки материалов). Наиболее интенсивные



**Рис. 1.** Оптическое изображение плоскопараллельного сегмента исследуемого зуба человека с межфазной границы стоматологический материал/биокомпозит/эмаль/дентин (А) с участком 100×200 мкм; 20× оптическое изображение данной области гетерофазной границы (Б); типичный ИК-спектр поглощения из области межфазной границы (В); ИК-карта общего поглощения, составленная на основе массива данных ИК-микроспектроскопии (Г)

моды колебания данного диапазона принадлежат группам  $\text{CH}_2\text{-CH}_3$  ( $1457\text{ см}^{-1}$ ) коллагена и амидным полосам ( $1650\text{ см}^{-1}$  (Amid I —  $\text{C=O}$ ),  $1550\text{ см}^{-1}$  (Amid II —  $\text{N-H}$ ) и  $1245\text{ см}^{-1}$  (Amid III —  $\text{CN stretching}$ ) [18, 19, 22]. Кроме этих полос в ИК-спектре присутствует мода в области  $1725\text{ см}^{-1}$ , принадлежащая группе эфира ( $-\text{COOCH}_3$ ), входящего в состав стоматологического материала на основе БИС-ГМА [19].

На рис. 2А представлена ИК-карта распределения молекулярной группы  $\text{PO}_4$  на участке интерфейса (рис. 1Б). Характерный ИК-спектр, представленный на рис. 2Б, был получен из участка образца на границе эмаль/биомиметический слой. В данном спектре содержится колебание группы  $\text{PO}_4$  в области  $1163\text{--}981\text{ см}^{-1}$ , присутствующей в составе апатита эмали/дентина зубов [19, 20] и биомиметическом материале. Исходя из полученных результатов можно заключить, что в области стоматологического материала не содержится фосфатных групп. Вся граничащая с эмалью область, где наблюдается ненулевая интенсивность активных колебаний спектра в диапазоне  $1163\text{--}981\text{ см}^{-1}$ , имеет размеры  $\sim 30\text{ мкм}$  (рис. 3А, пунктирная линия).

Для получения дополнительной информации об участке с межфазной границей было сгенерировано ИК-изображение (рис. 3А). Эта ИК-карта представляет информацию о распределении интенсивности молекулярных групп  $\text{CN}$ ,  $\text{NH}$ ,  $\text{C=O}$ ,  $\text{CH}_2/\text{CH}_3$  в области  $1718\text{--}1358\text{ см}^{-1}$  (рис. 3Б), принадлежащих коллагену, а также компонентам Amid I и Amid II, относимых к органической составляющей

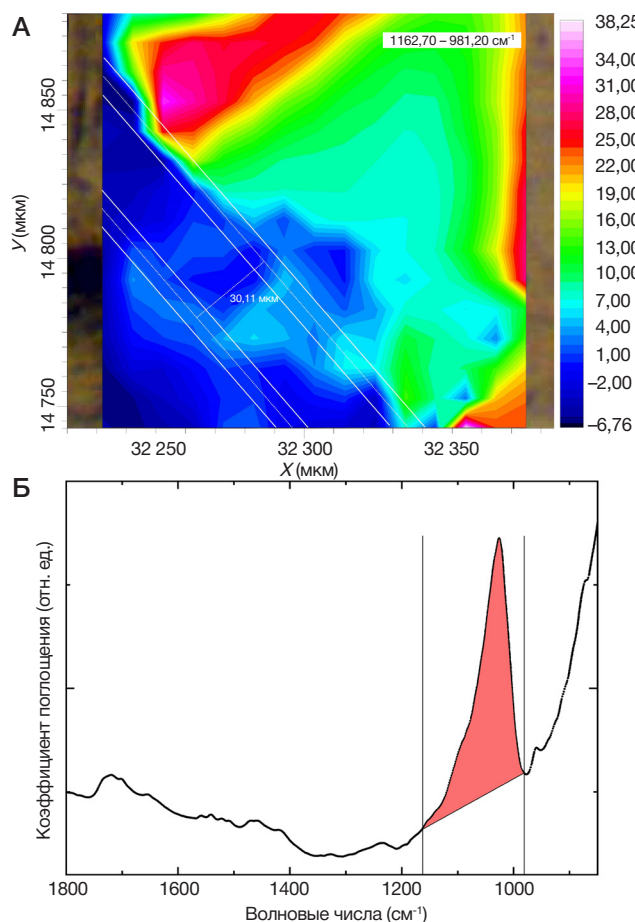
эмали/дентина и входящих в состав биомиметического буферного слоя.

Анализ данных, представленных на ИК-карте (рис. 3А), позволяет предположить, что распределение органической составляющей в буферном биомиметическом слое по сравнению с распределением фосфатных групп более гомогенно. Эти данные согласуются с технологическими условиями подготовки образцов, а в частности с тем фактом, что в составе созданного биомиметического слоя доля гидроксиапатита меньше, чем доля органического компонента.

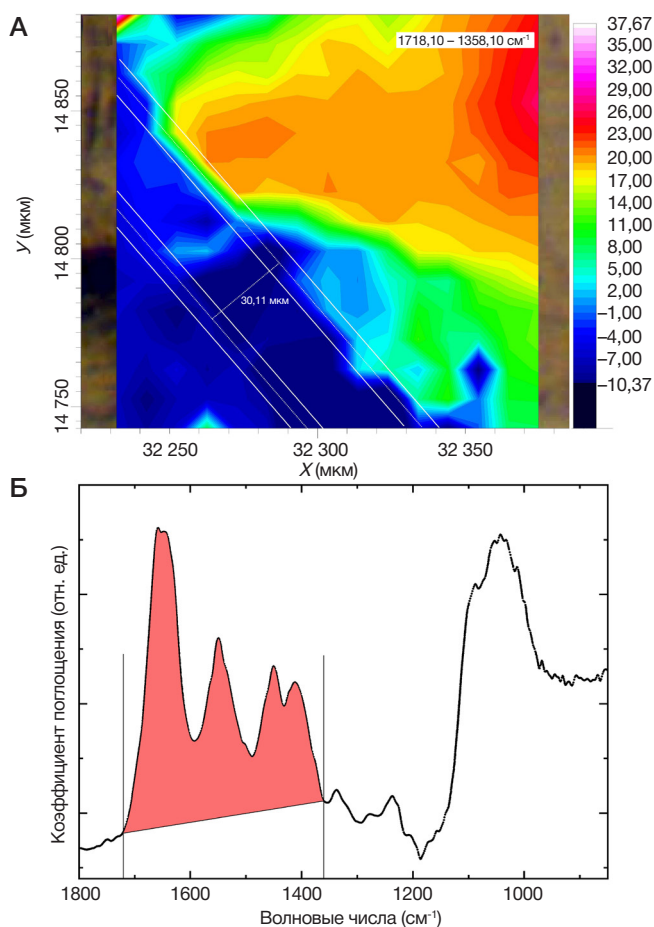
Как уже было отмечено, ИК-спектр, представленный на рис. 1В, содержит полосу поглощения, расположенную в области  $1725\text{ см}^{-1}$ . Хорошо известно, что это колебание является характерной особенностью ИК-спектров стоматологических цемента на основе БИС-ГМА и полиметилметакрилата и принадлежит молекулярной группе эфира ( $-\text{COOCH}_3$ ) [19]. Более того, данная полоса поглощения не перекрывается с другими колебаниями, что позволяет построить ИК-изображение (рис. 4А) на ее основе (рис. 4Б).

Созданная ИК-карта показывает пространственное распределение стоматологического материала в анализируемой области (рис. 4А). На рисунке видно, что максимальное распределение интенсивности колебательной моды группы эфира ( $-\text{COOCH}_3$ ) совпадает с наблюдаемым на оптическом снимке расположением материала (см. рис. 1Б).

Анализ полученного экспериментального спектра (см. рис. 1В) позволяет выделить интенсивную полосу



**Рис. 2. А.** ИК-карта поглощения, составленная на основе цветового кодирования интенсивности полосы спектра  $1163\text{--}981\text{ см}^{-1}$ . **Б.** ИК-спектр поглощения из области эмали образца, содержащий характерную фосфатную моду в области  $1163\text{--}981\text{ см}^{-1}$



**Рис. 3. А.** ИК-карта поглощения, составленная на основе цветового кодирования интенсивности полосы спектра  $1718\text{--}1358\text{ см}^{-1}$ . **Б.** ИК-спектр поглощения, содержащий колебания молекулярных групп  $\text{CN}$ ,  $\text{NH}$ ,  $\text{C=O}$ ,  $\text{CH}_2/\text{CH}_3$  в области  $1718\text{--}1358\text{ см}^{-1}$

поглощения группы Amid III в области  $1269\text{--}1224\text{ см}^{-1}$  и сформировать ИК-карту, относящуюся только к биомиметическому слою (рис. 5А). Следует отметить, что указанное колебание (рис. 5Б) не перекрывается с поглощением другими функциональными группами и может выступать реперной линией биомиметического композита.

Сопоставляя данные оптического изображения (см. рис. 1Б) и ИК-карты, представленной на рис. 5А, хорошо видно, что в основном молекулярная группа  $1269\text{--}1224\text{ см}^{-1}$  распределена лишь в узкой области образца, содержащей интерфейс светоотверждаемый материал — биомиметический буферный слой — эмаль/дентин человеческого зуба.

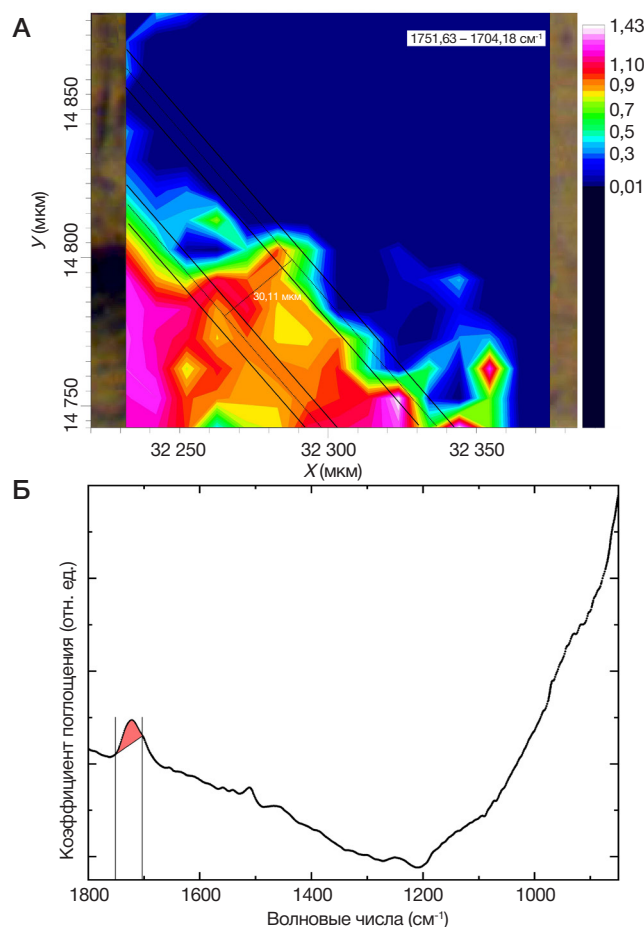
## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Использование ИК-спектроскопии для исследования стоматологических материалов [19], биомиметических композитов [20], а также нативной ткани зубов человека [6] позволяет зачастую охарактеризовать молекулярный состав образцов лишь интегрально. В отличие от результатов указанных работ одномерные изображения (ИК-карты), полученные нами на основе цветового кодирования интенсивностей четырех основных спектральных полос ( $1752\text{--}1704\text{ см}^{-1}$ ,  $1718\text{--}1358\text{ см}^{-1}$ ,  $1269\text{--}1224\text{ см}^{-1}$ ,  $1163\text{--}981\text{ см}^{-1}$ ), позволяют наглядно визуализировать распределение молекулярных групп на анализированном участке образца, а также установить молекулярно-химическое взаимодействие, происходящее

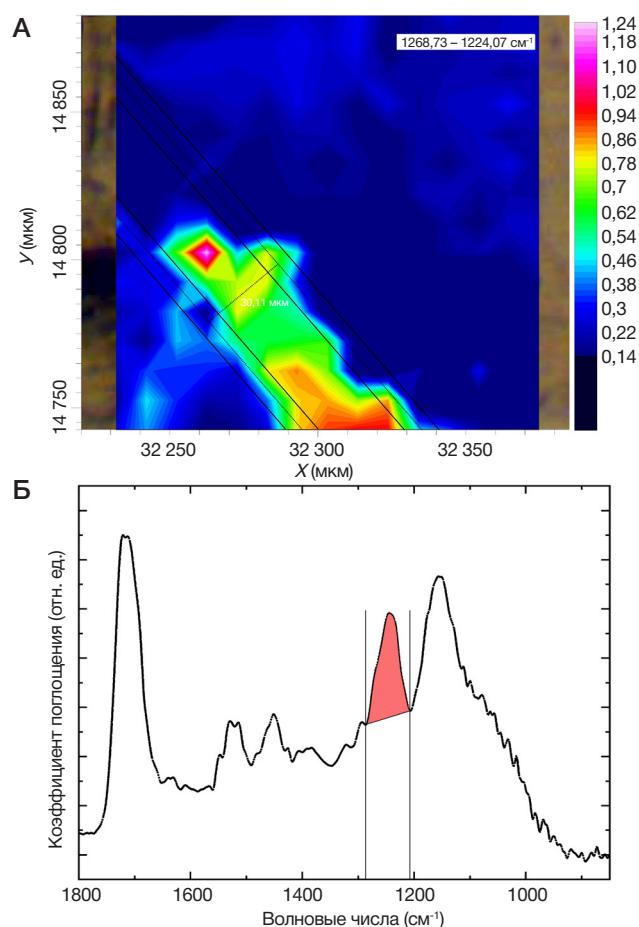
на границе интерфейса светоотверждаемый материал — биомиметический буферный слой — эмаль/дентин человеческого зуба.

Анализируя полученные нами ИК-изображения участка гетерофазной границы, следует отметить, что весьма интересным на ИК-карте фосфатной группы (см. рис. 2А) представляется участок, имеющий интенсивность от 1,0 до 7,0. Эта зона относится к биомиметическому переходному слою, содержащему синтезированный карбонат-замещенный гидроксипатит кальция, включение которого в состав биомиметического слоя позволяет повысить его молекулярно-химическое сродство с анатомической основой зуба [20]. Благодаря включению КГАП в биомиметический слой на ИК-карте (см. рис. 2А) хорошо заметна межфазная граница только между биомиметическим слоем и стоматологическим материалом, где резкая градация по цвету определяется интенсивностью моды колебаний группы  $\text{PO}_4$  КГАП. При этом явно выраженный интерфейс нативная ткань — биомиметический композит отсутствует, что подтверждает высокое сродство последнего с эмалью и дентином.

Следует, однако, отметить, что анализа только лишь ИК-карты, отображающей распределение фосфатной группы, недостаточно для исследования процессов интеграции стоматологического материала с эмалью/дентином зуба человека с применением переходного биомиметического слоя. В области  $1163\text{--}981\text{ см}^{-1}$  могут перекрываться полосы поглощения фосфатных групп (см. рис. 2Б) с колебаниями силикатов алюминия или оксида кремния,



**Рис. 4. А.** ИК-карта поглощения, составленная на основе цветового кодирования интенсивности полосы спектра  $1752\text{--}1704\text{ см}^{-1}$ . **Б.** ИК-спектр поглощения колебательной моды группы эфира ( $-\text{COOCH}_3$ ) в области  $1752\text{--}1704\text{ см}^{-1}$



**Рис. 5. А.** ИК-карта поглощения, составленная на основе цветового кодирования интенсивности полосы Amid III в спектре  $1269\text{--}1224\text{ см}^{-1}$ . **Б.** ИК-спектр поглощения из области эмали образца, содержащий характерную фосфатную моду в области  $1269\text{--}1224\text{ см}^{-1}$



входящих в состав стоматологического материала [19, 25]. Однако рассмотрение границы интерфейса (см. рис. 1А и 2А) не выявляет значимого присутствия данных соединений в анализируемой области спектра (рис. 2Б), что может отвечать их низкой концентрации в выбранной для анализа области.

В дополнение к ИК-карте, отображающей распределение фосфатной группы, ИК-изображение распределения колебаний в области  $1718\text{--}1358\text{ см}^{-1}$ , соотносимых с органической составляющей образца (см. рис. 3А), позволяет пространственно более точно указать границу интерфейса между эмалью и дентином. Как видно из рис. 3А, в области дентина характерно более высокое (красная область), по сравнению с эмалью (зеленая область), содержание органической составляющей, что соответствует известным данным [20].

В то же время, рассматривая вопрос о взаимодействии композерного материала/биомиметического буферного слоя и нативных твердых тканей необходимо обратить внимание на тот факт, что область колебаний  $1718\text{--}1358\text{ см}^{-1}$  в ИК-спектре содержит целый ряд перекрывающихся полос [18]. Это создает трудности для интерпретации результатов и препятствует получению однозначных выводов о типе взаимодействия в области интерфейса.

В свою очередь анализ ИК-карт на основе распределения молекулярной группы эфира ( $-\text{COOCH}_3$ ) (см. рис. 4А) и группы Amid III (рис. 5А), которые не имеют перекрывания с другими колебательными полосами в ИК-спектре, позволяет нам сделать следующие заключения о характере гетерофазной границы биомиметическая система/естественная твердая ткань. Во-первых, хорошо видно, что область интеграции стоматологического материала с участком эмали, где перепад интенсивности колебательной моды  $-\text{COOCH}_3$  от максимального до минимального, наблюдается на участке шириной  $\sim 14\text{ мкм}$  и накладывается на зону, в которой в большей степени преобладает органическая составляющая (рис. 4А, 5А). Во-вторых, из анализа распределения интенсивности поглощения для группы Amid III (рис. 5А), присутствующей в составе биомиметического переходного слоя, следует, что внедренный биомиметический слой отделяет нативные твердые ткани от стоматологического материала.

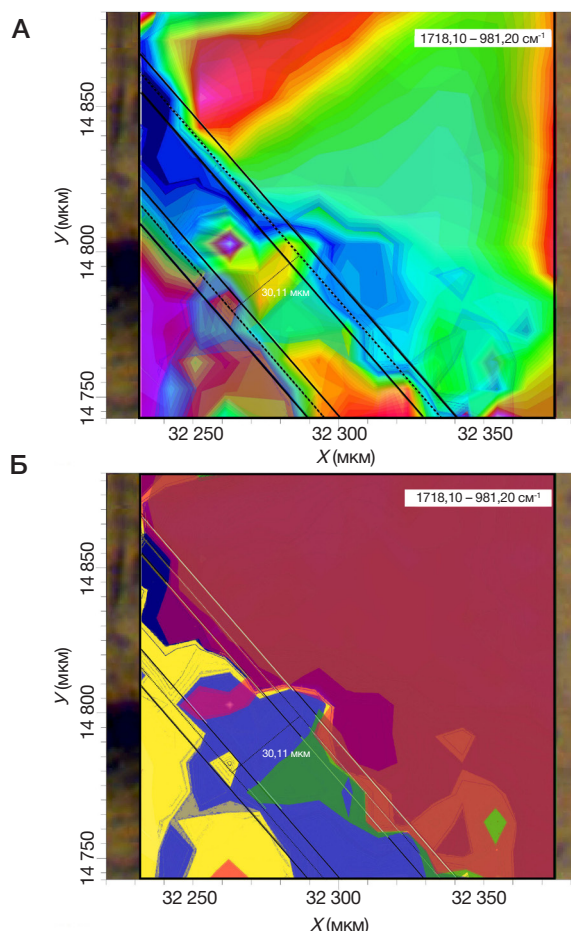
Отметим, что все построенные ИК-изображения (см. рис. 2А, 3А, 4А, 5А) наглядно отображают границу переходного слоя, в то время как иные методы визуализации показывают морфологическую картину на границе стоматологический материал/эмаль/дентин зубов [2, 4, 15], что не дает возможности анализировать переходные слои близкого состава в области интеграции.

Следует сказать, что одновременный анализ нескольких одномерных ИК-изображений молекулярных групп не всегда позволяет визуализировать взаимодействия, происходящие на гетерофазном интерфейсе между близкими по структуре материалами [6]. Это связано с ограничениями одномерного подхода к выявлению спектральных изменений при различении незначительных изменений в химической структуре. Однако неудобства могут быть преодолены за счет применения для анализа ИК-карт многомерных методов кластеризации, позволяющих эффективно систематизировать большое количество многокомпонентных ИК-спектров [26]. Используя этот подход, нам удалось проанализировать особенности сложного интерфейса стоматологический материал — биомиметический переходный слой — эмаль — дентин зуба человека. Кластерный анализ,

выполненный с учетом всех особенностей в спектральных областях  $1752\text{--}1704\text{ см}^{-1}$ ,  $1718\text{--}1358\text{ см}^{-1}$ ,  $1269\text{--}1224\text{ см}^{-1}$ ,  $1163\text{--}981\text{ см}^{-1}$ , обнаруживает, что взаимодействие между стоматологическим материалом и нативной твердой тканью зуба происходит посредством буферного слоя (рис. 6, показано пунктиром).

Распределение молекулярно-химических групп фосфатов, протеинов, амидов и компонентов эфира (рис. 6) показывает, что биомиметический слой между эмалью и коммерческим материалом связывается с частично деминерализованным эмалевым матриксом посредством образующегося буферного переходного подслоя, что может указывать на возникновение органоминерального взаимодействия в анализируемой области. В то же время из анализа данных (см. рис. 6) видно, что переходная область между биомиметическим слоем и дентином значительно шире. Это следствие более пористой структуры у дентина, по сравнению с эмалью [1, 2]. Что же касается формирования интерфейса между биомиметическим слоем и коммерческим стоматологическим материалом, то исходя из результатов кластеризации отчетливо видно, что существует тенденция проникновения органической и минеральной составляющих биомиметического буферного слоя в стоматологический светоотверждаемый адгезив с образованием переходного интерфейсного слоя.

Исходя из имеющихся данных можно предположить, что реальная величина переходного (интегрирующего) подслоя между биомиметическим композитом, стоматологическим



**Рис. 6.** Кластерный анализ, выполненный с учетом особенностей спектральных областей  $1760\text{--}1690\text{ см}^{-1}$  и  $1520\text{--}1360\text{ см}^{-1}$  с выделением области биомиметического композита



материалом и твердой тканью зуба составляет 3–4 мкм, что согласуется с имеющимися научными представлениями [27].

Полученные на основе анализа всех ИК-изображений данные (см. рис. 2–6) доподлинно свидетельствуют о химической дифференциации функциональных групп всех материалов в области границы биомиметическая система/естественная твердая ткань и подтверждают эффективность выбранного подхода для анализа интеграции стоматологических цемента и биомиметических композитов нового поколения.

Следует отметить, что полученные нами данные справедливы лишь в рамках примененной нами при создании образцов методики тотального протравливания. Однако эти результаты могут быть справедливы и для тех методик кондиционирования твердых тканей (самопротравливания, самоадгезивных систем и т. д.), в которых используют компоненты, подобные по химическому воздействию или составу материалам, исследованным нами в работе.

## ВЫВОДЫ

Продемонстрирована возможность применения молекулярной многомерной ИК-визуализации для анализа

интеграции нового поколения биомиметических материалов, воспроизводящих минералорганический комплекс эмали с нативными твердыми тканями зуба человека. С применением ИК-картирования интенсивности конкретной функциональной молекулярной группы с использованием синхротронного излучения были найдены и визуализированы различия между здоровой тканью, стоматологическим материалом и биомиметическим переходным слоем в межфазных областях, а также определены расположение и концентрация функциональных групп, отвечающих процессам интеграции биомиметического композита и нативной твердой ткани зуба человека. Показано, что разработанная нами биомиметическая система, на основе нанокристаллического КГАП, полученного из биогенного источника кальция и комплекса основных полярных аминокислот, соответствующих органоминеральному комплексу зубов человека, способна образовывать функциональную связь с твердой тканью зуба человека. Полученные нами микроспектроскопические данные достоверно подтверждают химическую дифференциацию материалов и наличие органоминерального взаимодействия на границе биомиметическая система/естественная твердая ткань.

## Литература

- Peutzfeldt A, Sahafi A, Flury S. Bonding of restorative materials to dentin with various luting agents. *Oper Dent*. 2011 Jun; 36 (3): 266–73.
- Temel UB, Van Ende A, Van Meerbeek B, Ermis RB. Bond strength and cement-tooth interfacial characterization of self-adhesive composite cements. *Am J Dent*. 2017 Aug; 30 (4): 205–11.
- Rohr N, Fischer J. Tooth surface treatment strategies for adhesive cementation. *J Adv Prosthodont*. 2017 Apr; 9 (2): 85–92.
- Pontes DG, Araujo CTP, Prieto LT, de Oliveira DCRS, Coppini EK, Dias CTS, Paulillo LAMS. Nanoleakage of fiber posts luted with different adhesive strategies and the effect of chlorhexidine on the interface of dentin and self-adhesive cements. *Gen Dent*. 2015 Jun; 63 (3): 31–7.
- Barandehfard F, Kianpour Rad M, Hosseinnia A, Khoshroo K, Tahriri M, Jazayeri HE, Moharamzadeh K, Tayebi L. The addition of synthesized hydroxyapatite and fluorapatite nanoparticles to a glass-ionomer cement for dental restoration and its effects on mechanical properties. *Ceramics International*. 2016 Nov 15; 42 (15): 17866–75.
- Simon JC, A. Lucas S, Lee RC, Darling CL, Staninec M, Vaderhobli R, Pelzner R, Fried D. Near-infrared imaging of secondary caries lesions around composite restorations at wavelengths from 1300–1700-nm. *Dental Materials*. 2016 Apr 1; 32 (4): 587–95.
- Uskoković V. Biomimetalization and biomimicry of tooth enamel. In: *Non-Metallic Biomaterials for Tooth Repair and Replacement* [Internet]. Elsevier; 2013 [cited 2014 Sep 10]: 20–44. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780857092441500021>.
- Niu L, Zhang W, Pashley DH, Breschi L, Mao J, Chen J, Tay FR. Biomimetic remineralization of dentin. *Dental Materials*. 2014; 30 (1): 77–96.
- Cao C, Mei M, Li Q, Lo E, Chu C. Methods for Biomimetic Mineralisation of Human Enamel: A Systematic Review. *Materials*. 2015 May 26; 8 (6): 2873–86.
- Dorozhkin SV. Hydroxyapatite and Other Calcium Orthophosphates: Bioceramics, Coatings and Dental Applications [Internet]. Nova Science Publishers, Inc New York; 2017 [cited 2017 Aug 23]. 462 p. Available from: <https://istina.msu.ru/publications/book/58538935/>
- El Rhilassi A, Mourabet M, Bennani-Ziatni M, El Hamri R, Taitai A. Interaction of some essential amino acids with synthesized poorly crystalline hydroxyapatite. *Journal of Saudi Chemical Society*. 2016; 20 (Suppl 1): 632–40.
- Li H, Gong M, Yang A, Ma J, Li X, Yan Y. Degradable biocomposite of nano calcium-deficient hydroxyapatite-multi (amino acid) copolymer. *Int J Nanomedicine*. 2012; (7): 1287–95.
- Aljabo A, Abou Neel EA, Knowles JC, Young AM. Development of dental composites with reactive fillers that promote precipitation of antibacterial-hydroxyapatite layers. *Materials Science and Engineering: C*. 2016; (60): 285–92.
- Tavafoghi M, Cerruti M. The role of amino acids in hydroxyapatite mineralization. *Journal of The Royal Society Interface*. 2016 Oct 1; 13 (123): 20160462.
- Ruan Q, Zhang Y, Yang X, Nutt S, Moradian-Oldak J. An amelogenin–chitosan matrix promotes assembly of an enamel-like layer with a dense interface. *Acta Biomaterialia*. 2013 Jul; 9 (7): 7289–97.
- Baker MJ, Trevisan J, Bassan P, Bhargava R, Butler HJ, Dorling KM, et al. Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. *Nat Protocols*. 2014; 9 (8): 1771–91.
- Vongsvivut J, Pérez-Guaita D, Wood BR, Heraud P, Khambatta K, Hartnell D, et al. Synchrotron macro ATR-FTIR microspectroscopy for high-resolution chemical mapping of single cells. *Analyst*. 2019 Mar 14; 144 (10): 3226–38.
- Seredin P, Goloshchapov D, Ippolitov Y, Vongsvivut P. Pathology-specific molecular profiles of saliva in patients with multiple dental caries — potential application for predictive, preventive and personalised medical services. *EPMA Journal*. 2018 Jun 1; 9 (2): 195–203.
- Hędzerek W, Marcinkowska A, Domka L, Wachowiak R. Infrared Spectroscopic Identification of Chosen Dental Materials and Natural Teeth. *Acta Physica Polonica A*. 2008 Aug; 114 (2): 471–84.
- Seredin PV, Goloshchapov DL, Prutskij T, Ippolitov YuA. Fabrication and characterisation of composites materials similar optically and in composition to native dental tissues. *Results in Physics*. 2017; (7): 1086–94.
- Ерусалимов Ф. А., Ипполитов Ю. А., Кунин А. А. Биоактивная бондинговая система [интернет]. RU2423966C2, 2011 [cited 2019 May 20]. Доступно по ссылке: <https://patents.google.com/patent/RU2423966C2/ru>.

22. Seredin PV, Goloshchapov DL, Gushchin MS, Ippolitov YA, Prutskij T. The importance of the biomimetic composites components for recreating the optical properties and molecular composition of intact dental tissues. *J Phys: Conf Ser.* 2017; 917 (4): 042019.
23. Ипполитов Ю. А. Возможность повышения биологической тропности светоотверждаемой бондинговой системы для адгезии твердых тканей зуба к пломбировочному материалу. *Волгоградский научно-медицинский журнал.* 2010; 4 (28): 31–4.
24. Середин П. В., Голощапов Д. Л., Prutskij T., Ипполитов Ю. А. Единовременный анализ микрообластей кариозного дентина методами лазерно-индуцированной флуоресценции и рамановской спектроскопии. *Оптика и спектроскопия.* 2018; 125 (11): 708.
25. Khan AS, Khalid H, Sarfraz Z, Khan M, Iqbal J, Muhammad N, et al. Vibrational spectroscopy of selective dental restorative materials. *Applied Spectroscopy Reviews.* 2017 Jul 3; 52 (6): 507–40.
26. Kobrina Y, Rieppo L, Saarakkala S, Pulkkinen HJ, Tiitu V, Valonen P, et al. Cluster analysis of infrared spectra can differentiate intact and repaired articular cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2013 Mar 1; 21 (3): 462–9.
27. Atmeh AR, Chong EZ, Richard G, Festy F, Watson TF. Dentin-cement Interfacial Interaction: Calcium Silicates and Polyalkenoates. *Journal of Dental Research [Internet].* 2012 Mar 20 [cited 2018 Apr 13]; Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/0022034512443068>.

## References

1. Peutzfeldt A, Sahafi A, Flury S. Bonding of restorative materials to dentin with various luting agents. *Oper Dent.* 2011 Jun; 36 (3): 266–73.
2. Temel UB, Van Ende A, Van Meerbeek B, Ermis RB. Bond strength and cement-tooth interfacial characterization of self-adhesive composite cements. *Am J Dent.* 2017 Aug; 30 (4): 205–11.
3. Rohr N, Fischer J. Tooth surface treatment strategies for adhesive cementation. *J Adv Prosthodont.* 2017 Apr; 9 (2): 85–92.
4. Pontes DG, Araujo CTP, Prieto LT, de Oliveira DCRS, Coppini EK, Dias CTS, Paulillo LAMS. Nanoleakage of fiber posts luted with different adhesive strategies and the effect of chlorhexidine on the interface of dentin and self-adhesive cements. *Gen Dent.* 2015 Jun; 63 (3): 31–7.
5. Barandehfar F, Kianpour Rad M, Hosseinnia A, Khoshroo K, Tahriri M, Jazayeri HE, Moharamzadeh K, Tayebi L. The addition of synthesized hydroxyapatite and fluorapatite nanoparticles to a glass-ionomer cement for dental restoration and its effects on mechanical properties. *Ceramics International.* 2016 Nov 15; 42 (15): 17866–75.
6. Simon JC, A. Lucas S, Lee RC, Darling CL, Staninec M, Vaderhobli R, Pelzner R, Fried D. Near-infrared imaging of secondary caries lesions around composite restorations at wavelengths from 1300–1700-nm. *Dental Materials.* 2016 Apr 1; 32 (4): 587–95.
7. Uskoković V. Biomineralization and biomimicry of tooth enamel. In: *Non-Metallic Biomaterials for Tooth Repair and Replacement [Internet].* Elsevier; 2013 [cited 2014 Sep 10]: 20–44. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780857092441500021>.
8. Niu L, Zhang W, Pashley DH, Breschi L, Mao J, Chen J, Tay FR. Biomimetic remineralization of dentin. *Dental Materials.* 2014; 30 (1): 77–96.
9. Cao C, Mei M, Li Q, Lo E, Chu C. Methods for Biomimetic Mineralisation of Human Enamel: A Systematic Review. *Materials.* 2015 May 26; 8 (6): 2873–86.
10. Dorozhkin SV. Hydroxyapatite and Other Calcium Orthophosphates: Bioceramics, Coatings and Dental Applications [Internet]. Nova Science Publishers, Inc New York; 2017 [cited 2017 Aug 23]. 462 p. Available from: <https://istina.msu.ru/publications/book/58538935/>
11. El Rhilassi A, Mourabet M, Bennani-Ziatni M, El Hamri R, Taitai A. Interaction of some essential amino acids with synthesized poorly crystalline hydroxyapatite. *Journal of Saudi Chemical Society.* 2016; 20 (Suppl 1): 632–40.
12. Li H, Gong M, Yang A, Ma J, Li X, Yan Y. Degradable biocomposite of nano calcium-deficient hydroxyapatite-multi(amino acid) copolymer. *Int J Nanomedicine.* 2012; (7): 1287–95.
13. Aljabo A, Abou Neel EA, Knowles JC, Young AM. Development of dental composites with reactive fillers that promote precipitation of antibacterial-hydroxyapatite layers. *Materials Science and Engineering: C.* 2016; (60): 285–92.
14. Tavafoghi M, Cerruti M. The role of amino acids in hydroxyapatite mineralization. *Journal of The Royal Society Interface.* 2016 Oct 1; 13 (123): 20160462.
15. Ruan Q, Zhang Y, Yang X, Nutt S, Moradian-Oldak J. An amelogenin–chitosan matrix promotes assembly of an enamel-like layer with a dense interface. *Acta Biomaterialia.* 2013 Jul; 9 (7): 7289–97.
16. Baker MJ, Trevisan J, Bassan P, Bhargava R, Butler HJ, Dorling KM, et al. Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. *Nat Protocols.* 2014; 9 (8): 1771–91.
17. Vongsvivut J, Pérez-Guaita D, Wood BR, Heraud P, Khambatta K, Hartnell D, et al. Synchrotron macro ATR-FTIR microspectroscopy for high-resolution chemical mapping of single cells. *Analyst.* 2019 Mar 14; 144 (10): 3226–38.
18. Seredin P, Goloshchapov D, Ippolitov Y, Vongsvivut P. Pathology-specific molecular profiles of saliva in patients with multiple dental caries — potential application for predictive, preventive and personalised medical services. *EPMA Journal.* 2018 Jun 1; 9 (2): 195–203.
19. Hędzielek W, Marcinkowska A, Domka L, Wachowiak R. Infrared Spectroscopic Identification of Chosen Dental Materials and Natural Teeth. *Acta Physica Polonica A.* 2008 Aug; 114 (2): 471–84.
20. Seredin PV, Goloshchapov DL, Prutskij T, Ippolitov YuA. Fabrication and characterisation of composites materials similar optically and in composition to native dental tissues. *Results in Physics.* 2017; (7): 1086–94.
21. Erusalimov FA, Ippolitov YuA, Kunin AA. Bioactive bonding system [Internet]. RU2423966C2, 2011 [cited 2019 Jul 18]. Available from: <https://patents.google.com/patent/RU2423966C2/en>
22. Seredin PV, Goloshchapov DL, Gushchin MS, Ippolitov YA, Prutskij T. The importance of the biomimetic composites components for recreating the optical properties and molecular composition of intact dental tissues. *J Phys: Conf Ser.* 2017; 917 (4): 042019.
23. Ippolitov YuA. The possibility of bond system biological compatibility improvement for adhesion of hard dental tissues to filling material. *Volgogradskij nauchno-medicinskij zhurnal.* 2010; 4 (28): 31–4.
24. Seredin PV, Goloshchapov DL, Prutskij T, Ippolitov YuA. A Simultaneous Analysis of Microregions of Carious Dentin by the Methods of Laser-Induced Fluorescence and Raman Spectromicroscopy. *Opt Spectrosc.* 2018 Nov 1; 125 (5): 803–9.
25. Khan AS, Khalid H, Sarfraz Z, Khan M, Iqbal J, Muhammad N, et al. Vibrational spectroscopy of selective dental restorative materials. *Applied Spectroscopy Reviews.* 2017 Jul 3; 52 (6): 507–40.
26. Kobrina Y, Rieppo L, Saarakkala S, Pulkkinen HJ, Tiitu V, Valonen P, et al. Cluster analysis of infrared spectra can differentiate intact and repaired articular cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2013 Mar 1; 21 (3): 462–9.
27. Atmeh AR, Chong EZ, Richard G, Festy F, Watson TF. Dentin-cement Interfacial Interaction: Calcium Silicates and Polyalkenoates. *Journal of Dental Research [Internet].* 2012 Mar 20 [cited 2018 Apr 13]; Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/0022034512443068>

## ГИРУДОТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА

Т. И. Сашкина<sup>1</sup>, А. И. Абдуллаева<sup>1</sup>✉, Г. С. Рунова<sup>2</sup>, И. В. Салдусова<sup>2</sup>, О. В. Зайченко<sup>2</sup>, Д. К. Фасхутдинов<sup>2</sup>, С. И. Соколова<sup>2</sup>, Е. П. Пустовая<sup>3</sup><sup>1</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия<sup>2</sup> Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова, Москва, Россия<sup>3</sup> Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

Хронический генерализованный пародонтит (ХГП) — заболевание, которое представляет определенные трудности для специалистов, поскольку характеризуется устойчивостью к применяемой терапии. Поэтому постоянно идет поиск препаратов и методов, позволяющих повысить эффективность лечения ХГП. Нередко возникают дополнительные проблемы, которые связаны либо с антибиотикорезистентностью, либо с повышенной чувствительностью к препаратам. Целью исследования было определить возможность использования гирудотерапии при консервативном лечении пациентов с ХГП. Было обследовано и пролечено 50 пациентов с ХГП, не имеющих соматической патологии. Они были разделены на две группы по 25 человек, примерно одного возраста. В каждой из групп сначала проводили лечение в соответствии с принятым стандартом: назначали профессиональные гигиенические процедуры, антимикробные и противовоспалительные препараты, обучали индивидуальной гигиене. Затем пациентам первой группы проводили курс гирудотерапии, состоящий из 6–8 процедур в течение месяца. При этом пациенты второй группы находились на диспансерном учете с целью контроля гигиены полости рта. Анализ полученных результатов показал более высокую эффективность гирудотерапии по отношению к группе сравнения. В группе, в которой использовали медицинские пиявки, происходило достоверное снижение папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса (РМА), характеризующего интенсивность воспалительного процесса и кровоточивость тканей десны: на 32% при легкой степени тяжести, на 24% при средней степени тяжести, на 6% при тяжелой степени тяжести ХГП. Таким образом, показана эффективность гирудотерапии в консервативном лечении пациентов с ХГП, что позволяет рекомендовать этот метод в клиническую практику.

**Ключевые слова:** хронический генерализованный пародонтит, гирудотерапия, пародонтальные индексы

**Информация о вкладе авторов:** Т. И. Сашкина, А. И. Абдуллаева — планирование исследования, обработка полученных данных, редактирование рукописи; О. В. Зайченко и Е. П. Пустовая — обработка полученных данных, статистическая обработка данных, редактирование рукописи; С. И. Соколова, И. В. Салдусова — обработка полученных данных, редактирование рукописи; Д. К. Фасхутдинов, Г. С. Рунова — сбор данных, написание черновика рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование было одобрено этическим комитетом РНИМУ имени Н. И. Пирогова (протокол № 981 от 24 июня 2019 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Айтан Измировна Абдуллаева  
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997; aitanka@list.ru**Статья получена:** 25.06.2019 **Статья принята к печати:** 25.07.2019 **Опубликована онлайн:** 18.08.2019**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.052

## HIRUDOTHERAPY IN TREATMENT OF CHRONIC GENERALISED PERIODONTITIS

Sashkina TI<sup>1</sup>, Abdullaeva AI<sup>1</sup>✉, Runova GS<sup>2</sup>, Saldusova IV<sup>2</sup>, Zajchenko OV<sup>2</sup>, Faskhutdinov DK<sup>2</sup>, Sokolova SI<sup>2</sup>, Pustovaya EP<sup>3</sup><sup>1</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia<sup>2</sup> Al Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia<sup>3</sup> Peoples Friendship University of Russia, Moscow, Russia

Chronic generalized periodontitis (CGP) is a disease associated with low susceptibility to the therapeutic protocols applied; practitioners tend to characterize it as a disease presenting certain difficulties. Therefore, the search for drugs and methods capable of increasing the efficacy of CGP therapy is an ongoing process. Additional problems, which have to do with either with antibiotic resistance or increased sensitivity to drugs, also occur quite often. This study aimed to assess the possibility of applying hirudotherapy in the context of conservative treatment of CGP. 50 patients with CGP without somatic pathology were examined and treated. The participants were divided into two groups ( $n = 25$ ), all group members of about the same age. At the first stage, the treatment followed the accepted standard: professional oral hygiene procedures, antimicrobial and anti-inflammatory drugs, demonstration of proper personal oral hygiene routines. Then, first group went through a monthlong hirudotherapy course that consisted of 6 to 8 individual procedures. Second group was observed throughout this period with the aim to control the level of their compliance with the oral hygiene routines they were trained. Having analyzed the results, we found that hirudotherapy was more effective than what was prescribed to the second (control) group. The papillary marginal alveolar index (PMA), which reflects the severity of inflammation and gum bleeding, decreased significantly in the first group, where medicinal leeches were used: in the patients with severe CGP it went down by 6%, in those with moderately severe CGP the index decreased by 24% and the participants whose CGP was only light had the PMA go down by 2%. Thus, we have demonstrated the efficacy of hirudotherapy in the context of conservative CGP treatment, which allows recommending this method for inclusion into clinical practice.

**Keywords:** chronic generalized periodontitis, hirudotherapy, periodontal indices

**Author contribution:** Sashkina TI, Abdullaeva AI — research planning, data processing, manuscript editing; Zajchenko OV and Pustovaya EP — data processing, statistical data processing, manuscript editing; Sokolova SI, Saldusova IV — data processing, manuscript editing; Faskhutdinov DK, Runova GS — data collection, manuscript drafting.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Pirogov Russian National Research Medical University (protocol № 981 of June 24, 2019).

✉ **Correspondence should be addressed:** Aytan I. Abdullaeva  
Ostrovityanova 1, Moscow, 117997; aitanka@list.ru**Received:** 25.06.2019 **Accepted:** 25.07.2019 **Published online:** 18.08.2019**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.052

Согласно данным ВОЗ, более 90% населения Земли страдают хроническими воспалительными заболеваниями пародонта, имеющими длительное, упорное течение, приводящими к потере зубов, развитию хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой и других систем, что отрицательно сказывается на здоровье и качестве жизни пациентов [1, 2]. По этой причине пародонтит имеет не только общемедицинскую, но и социальную значимость и является актуальной проблемой в стоматологии. Существуют различные подходы к лечению пародонтита: наряду с обязательной антимикробной терапией и профессиональной гигиеной, используют хирургические, физиотерапевтические и альтернативные методы лечения, например натуропатию. По литературным данным при различных воспалительных заболеваниях применяют метод гирудотерапии. Слюна пиявок, обладая бактериостатическим действием, снижает микробную нагрузку на ткани пародонта, нормализует процессы гемостаза [3–6]. Это мотивировало нас изучить применение гирудотерапии при консервативном лечении ХГП [4, 5].

Целью работы было изучить эффективность использования гирудотерапии в комплексном консервативном лечении пациентов с ХГП.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 50 пациентов (21 мужчина и 29 женщин) в возрасте 32–52 года, страдающих ХГП легкой, средней и тяжелой степени тяжести. Критерии включения: подписанное информированное согласие; наличие ХГП без сопутствующей соматической патологии в возрасте от 32 до 52 лет; прохождение обучения по уходу за раной; предварительная терапия в соответствии со стандартом, утвержденным Министерством здравоохранения РФ; Критерии исключения: наличие сопутствующей соматической патологии; возраст моложе 32 и старше 52 лет; некорректное выполнение рекомендаций врачей и несоблюдение гигиены ротовой полости; отсутствие предварительной терапии в соответствии со стандартом, утвержденным Министерством здравоохранения РФ. Пациенты были разделены на две группы, сопоставимые по клинико-функциональным характеристикам. В основную группу вошли 25 человек: 9 человек (36%) с ХГП легкой

степени тяжести, 9 человек (36%) со средней степенью тяжести, 7 человек (28%) с тяжелой степенью. Состав группы сравнения был аналогичен основной, и в нее было включено 25 человек (рис. 1). Все пациенты были без отягощенной соматической патологии. Эффективность лечения оценивали с помощью папиллярно-маргинально-альвеолярного (РМА) индекса, который позволяет контролировать степень воспалительного процесса.

Пациентам основной группы в течение недели проводили стандартное лечение, включающее антимикробную, противовоспалительную терапию, профессиональные гигиенические процедуры, а затем комплексное лечение, включающее гирудотерапию, которая заключалась в прикреплении пиявок к тканям пародонта в области воспалительного процесса (рис. 2). Использовали медицинские пиявки (*Hirudo medicinalis*) стандартного размера (0,6–1 г). Курс состоял из 6–8 процедур, проводимых 2 раза в неделю в течение месяца. Прикрепление пиявок проводили через 2 ч после приема пищи; пациентов предупреждали, что не должно быть специфического запаха из ротовой полости, например лука, чеснока, ополаскивателей для полости рта, кофе, кардамона. Кроме того, перед посещением стоматолога пациентам было запрещено в течение 5–6 ч курить и пользоваться парфюмерными средствами.

Пациентам контрольной группы проводили лечение по стандартному протоколу, вместо назначения гирудотерапии за ними было установлено диспансерное наблюдение с целью контроля соблюдения ими индивидуальной гигиены.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью критерия Стьюдента при достоверности результатов 95% ( $p < 0,05$ ), используя программное обеспечение STATISTICA 10 (Паунд-рок; США).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ полученных результатов показал, что в первой группе применение медицинских пиявок позволяло усилить положительный результат, полученный в ходе стандартного лечения, при этом пародонтальные индексы имели тенденцию к дальнейшему снижению. При легкой степени тяжести ХГП после лечения РМА индекс достиг максимального достоверного снижения: с  $21,89 \pm 2,03$  до  $14,89 \pm 2,14$  ( $p < 0,05$ ). При средней

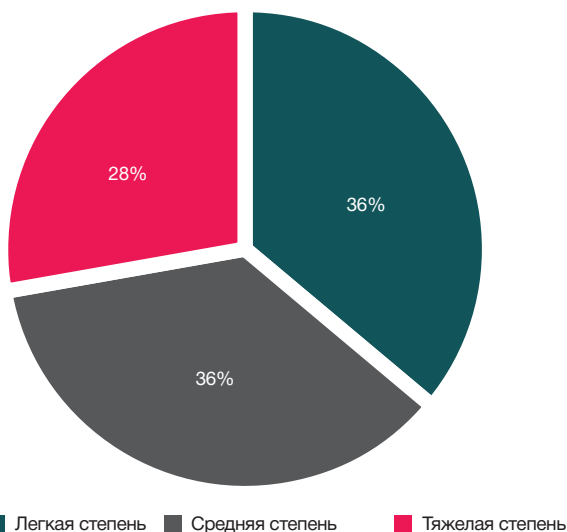


Рис. 1. Распределение пациентов с ХГП в группах в зависимости от степени тяжести генерализованного пародонтита ( $n = 25$ )

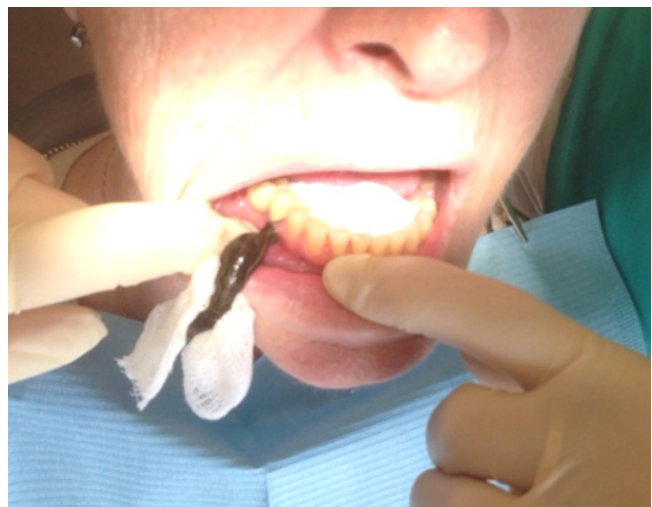


Рис. 2. Применение медицинских пиявок при лечении пациентов с ХГП. Медицинская пиявка стандартного размера прикреплена к тканям парадонта в области воспалительного процесса



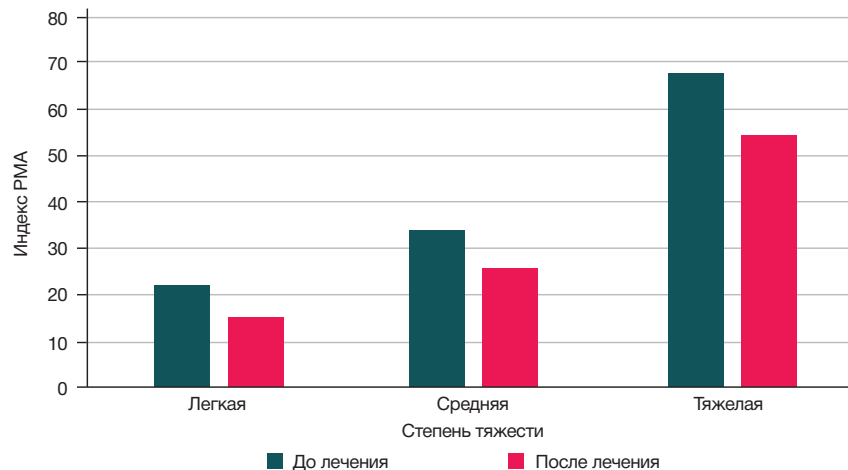


Рис. 3. Динамика индекса РМА в первой группе пациентов с ХГП ( $n = 25$ )

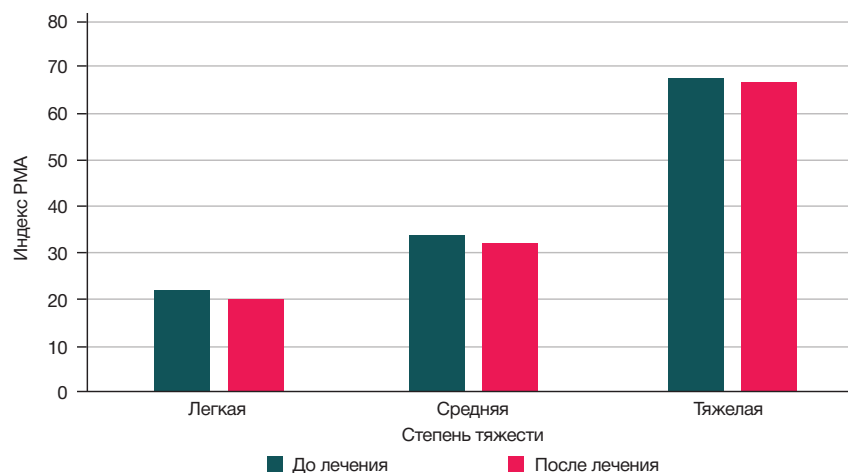


Рис. 4. Изменение индекса РМА в группе сравнения пациентов с ХГП ( $n = 25$ )

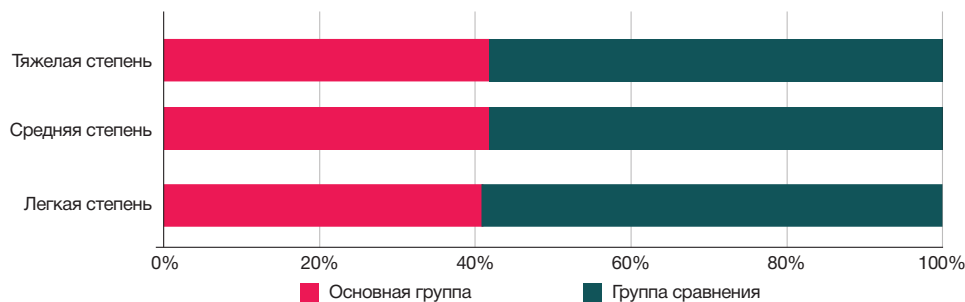


Рис. 5. Сравнительный анализ индекса РМА в основной группе и группе сравнения с ХГП после проведенного комплекса лечения

степени тяжести ХГП снижение индекса РМА происходило в меньшей степени: с  $33,74 \pm 3,57$  до  $25,74 \pm 3,21$ . При тяжелой степени тяжести снижение индекса РМА было недостоверным: с  $67,85 \pm 1,28$  до  $64,24 \pm 1,26$ , ( $p \geq 0,05$ ) (рис. 3). В отличие от первой группы в группе сравнения результаты были менее выраженными, при легкой степени тяжести ХГП снижение индекса РМА было достоверным, но в меньшей степени, чем в первой группе: с  $24,91 \pm 2,73$  до  $19,91 \pm 2,08$  ( $p < 0,05$ ). При средней степени тяжести — с  $33,61 \pm 3,14$  до  $28,36 \pm 3,44$ . При тяжелой степени тяжести ХГП с  $67,15 \pm 1,28$  до  $66,85 \pm 1,18$  (рис. 4). При средней и тяжелой степенях тяжести ХГП результаты остались недостоверными ( $p \geq 0,05$ ). При сравнении величин, полученных в обеих группах, в основной группе выявлен более значительный клинический эффект при легкой и средней степенях тяжести ХГП (рис. 5).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наше исследование в некоторой степени согласуется с работой, напечатанной в 2014 г., в которой при лечении пародонтита использовали гирудотерапию наряду с липосомным препаратом «Липин». Авторы показали большую эффективность используемого комплексного лечения по сравнению со стандартным, при этом вклад каждого из компонентов лечения в конечный результат не был оценен [6]. Мы показали, что изолированное применение гирудотерапии способствовало значительному купированию воспалительного процесса у больных с ХГП: снижению отека, артериальной гиперемии и кровоточивости десен. Лечение медицинскими пиявками позволило получить более выраженный и длительный эффект по сравнению с пациентами контрольной группы, что привело к увеличению продолжительности ремиссии.

Положительная динамика всех изучаемых индексов оказалась более выраженной при легкой и средней степенях тяжести и была отмечена уже после 2–4 процедур гирудотерапии.

## ВЫВОДЫ

Проведенное исследование продемонстрировало положительный терапевтический эффект гирудотерапии

в лечении ХГП. Данная тактика лечения существенно повышает эффективность стандартных лечебных мероприятий и достоверно снижает воспалительный потенциал тканей пародонта: боль, зуд, кровоточивость десен. Учитывая растущую антибиотикорезистентность и высокую сенсibilизацию населения, в том числе к антибактериальным препаратам, гирудотерапия может быть методом выбора, а иногда одним из немногих в лечении определенных групп населения.

## Литература

1. Сашкина Т. И., Порядин Г. В., Рунова Г. С., Дубровин Д. С., Фасхутдинов Д. К., Маркина М. Л., и др. Применение иммуномодулятора для коррекции воспалительного процесса в тканях пародонта у больных с хроническим генерализованным пародонтитом. Российская стоматология. 2016; 9 (3): 38–41.
2. Грудянов А. И., Ткачева О. Н., Авраимова Т. В., Хватова Н. Т. Вопросы взаимосвязи воспалительных заболеваний пародонта и сердечно-сосудистой патологии. Стоматология. 2015; 94 (3): 50–5.
3. Данилевский Н. Ф. Заболевания слизистой оболочки полости рта. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2001.
4. Цепов Л. М., Цепова Е. Л., Цепов А. Л. Пародонтит: локальный очаг серьезных проблем. Пародонтология. 2014; 3 (72): 3–10.
5. Trevisatto PC, de Brito RBJr, Scarel-Caminaga RM, de Souza AP, Sallum AW, Line SRP. Polymorphism in the tumor necrosis factor-alpha gene (TNFA-308 G/A) is not associated with susceptibility to chronic periodontitis in a Brazilian population. Dentistry 3000. 2015; (3): 1.
6. Абдувалиев А. А., Дауреханов А. М. Гирудотерапия в комплексном лечении больных реактивным артритом. Вестник КазНМУ. 2017; (1): 249–52.

## References

1. Sashkina TI, Poryadin GV, Runova GS, Dubrovin DS, Faskhutdinov DK, Markina ML, et al. The application of an immunomodulator for the correction of the inflammatory process in periodontal tissues of the patients presenting with chronic generalized periodontitis. Rossiiskaya stomatologia. 2016; 9 (3): 38–41. In Russian.
2. Grudyanov AI, Tkacheva ON, Avraamova TV, Khvatova NT. The relationship between inflammatory periodontal diseases and cardiovascular diseases. Rossiiskaya stomatologia. 2015; 94 (3): 50–5. In Russian.
3. Danilevskij NF. Zabolevaniya slizistoj obolochki polosti rta. M.: GEOTAR-Media, 2001. In Russian.
4. Tsepov LM, Tsepova EL, Tsepov AL. Marginal periodontitis: local focus of serious problems. Parodontologia. 2014; 3 (72): 3–10.
5. Trevisatto PC, de Brito RBJr, Scarel-Caminaga RM, de Souza AP, Sallum AW, Line SRP. Polymorphism in the tumor necrosis factor-alpha gene (TNFA-308 G/A) is not associated with susceptibility to chronic periodontitis in a Brazilian population. Dentistry 3000. 2015; (3): 1.
6. Abduvaliev AA, Daurekhanov AM, Hirudotherapy as a complex treatment of patients with reactive arthritis. Bulletin of KazNMU. 2017; (1): 249–52.

## ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОННЫХ УСТРОЙСТВ НА ФИЗИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ СОВРЕМЕННОЙ МОЛОДЕЖИ И РЕКОМЕНДАЦИИ ПО РЕГЛАМЕНТУ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

О. Ю. Милушкина<sup>1</sup>, Н. А. Скоблина<sup>1</sup>, С. В. Маркелова<sup>1</sup>, А. А. Татаринчик<sup>1</sup>, Е. П. Мелихова<sup>2</sup> ✉, И. И. Либина<sup>2</sup>, М. В. Попов<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> Воронежский государственный медицинский университет имени Н. Н. Бурденко, Воронеж, Россия

Влияние частого и длительного использования электронных устройств (ЭУ) на состояние здоровья молодежи до сих пор недостаточно изучено. Исследования по регламентации использования стационарных и мобильных ЭУ для обеспечения оптимального физического развития молодежи становятся особо актуальными. Целью работы было установить характер и степень влияния использования ЭУ на физическое развитие молодых людей и рекомендовать режим использования ЭУ в течение дня для профилактики возникновения отклонений в физическом развитии. Для определения физического развития 460 старшеклассников и 598 студентов использовали гигиенический, инструментальный, социологический, статистический методы исследования: стандартную антропометрическую методику; для оценки психоэмоционального состояния — тест Спилберга–Ханина; для учета использования ЭУ проводили анкетирование с применением стандартизированных опросников. При среднем суммарном ежедневном времени использования ЭУ у старших школьников, составляющем 7 ч, и у студентов, равном 8,5–10 ч, нормальное физическое развитие выявлено в среднем только у 60% обследованных, причем это не связано с регионом проживания или типом образовательного учреждения. Показано, что частое и длительное использование ЭУ молодежью служит одним из факторов, способных вызвать отклонения в физическом развитии. Установлено, что ежедневное использование стационарных ЭУ увеличивает риск возникновения у подрастающего поколения нарушений в физическом развитии за счет дефицита массы тела на 24% и его избытка на 10%. В качестве профилактических мероприятий рекомендованы отказ от использования стационарных ЭУ, компьютера и ноутбука на 1 день в неделю (в выходной день) и ограничение суммарного времени использования всех видов ЭУ до 3 ч в день.

**Ключевые слова:** здоровье, электронные устройства, физическое развитие, информационно-коммуникационные технологии, психоэмоциональное состояние, школьники, студенты

**Информация о вкладе авторов:** О. Ю. Милушкина и Н. А. Скоблина — научное руководство, обработка материала, написание статьи; С. В. Маркелова, И. И. Либина и М. В. Попов — сбор и обработка материала; А. А. Татаринчик — анализ литературных данных, сбор и обработка материала; Е. П. Мелихова — сбор и обработка материала, редактирование статьи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н. И. Пирогова Минздрава России (протокол № 159 от 21 ноября 2016 г.); для каждого обследованного было получено добровольное информированное согласие.

✉ **Для корреспонденции:** Екатерина Петровна Мелихова  
ул. Студенческая, д. 10, г. Воронеж, 394036; katerina.2109@mail.ru

**Статья получена:** 04.07.2019 **Статья принята к печати:** 18.07.2019 **Опубликована онлайн:** 23.07.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.046

## THE IMPACT OF ELECTRONIC DEVICES ON THE PHYSICAL GROWTH AND DEVELOPMENT OF THE MODERN YOUTH AND RECOMMENDATIONS ON THEIR SAFE USE

Milushkina OYu<sup>1</sup>, Skoblina NA<sup>1</sup>, Markelova SV<sup>1</sup>, Tatarinchik AA<sup>1</sup>, Melikhova EP<sup>2</sup> ✉, Libina II<sup>2</sup>, Popov MV<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

The impact of excessive exposure to electronic devices (ED) on youth health remains understudied. There is a pressing need to develop recommendations for the safe use of stationary and mobile ED aimed at minimizing health risks. In this work, we assess the effect of ED on the physical growth and development of high-school and university students and provide recommendations for preventing the negative impact of prolonged screen time on health. The study recruited 460 high-school and 598 university students. Standard anthropometric measurements were taken. The psychological and emotional state of the participants was evaluated using the Test Anxiety Inventory by Spielberg (modified by Khanin). To estimate daily and weekly exposure to ED the participants were asked to fill out standardized questionnaires. In high school students, the average screen time was 7 h a day; in university students, 8.5 to 10 h a day. Only 60% of the participants, regardless of their place of residence or the type of educational institution they were attending, were physically healthy. We conclude that prolonged and frequent exposure to ED is one of the factors that can interfere with normal physical growth and development in youth. Regular daily use of stationary ED increases the risk of developing body weight deficit by 24% and gaining excess body weight by 10%. We recommend that students should eliminate computers, laptops and stationary ED from their daily activities for at least one day at the weekend and reduce total screen time to 3 hours a day.

**Keywords:** health, electronic devices, information and communication technologies, physical growth and development, psycho-emotional state, high-school students, university students

**Author contribution:** Milushkina OYu and Skoblina NA supervised the study, processed the collected data and wrote the manuscript; Markelova SV, Libina II and Popov MV collected and processed the data; Tatarinchik AA analyzed the literature, collected and processed the data; Melikhova EP collected and processed the data and edited the manuscript.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Pirogov Russian National Medical Research University (Protocol 159 dated November 21, 2016). Informed consent was obtained from all study participants.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina P. Melikhova  
Studencheskaya 10, Voronezh, 394036; katerina.2109@mail.ru

**Received:** 04.07.2019 **Accepted:** 18.07.2019 **Published online:** 23.07.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.046

В последние годы среди гигиенических факторов, влияющих на состояние здоровья молодежи, заметным становится фактор использования школьниками и студентами информационно-коммуникационных технологий (ИКТ), а именно различных электронных устройств (ЭУ) [1–8].

За последние два десятилетия ЭУ не только были интегрированы в образовательную среду, но и стали неотъемлемой частью досуга молодежи. Если в 2008 г. пользовались Интернетом только три четверти подростков и молодежи 12–24 лет, то уже спустя 10 лет это значение достигло 96,9%, причем доля суточной аудитории Интернета среди подростков и молодежи существенно превышает аналогичные показатели у взрослых пользователей. Такая активность увеличения интернет-аудитории связана в первую очередь с доступностью мобильных ЭУ, способных выходить в Интернет, в первую очередь — мобильного телефона [9, 10].

Использование ИКТ в системе образования имеет ряд серьезных преимуществ: более низкая стоимость образования, несмотря на значительные первоначальные капиталовложения; индивидуальная скорость работы с образовательными программами, которую можно менять в зависимости от успехов ученика; возможность выбора места обучения, отсутствие жестких требований пространственной ориентации; эффективный контроль над уровнем знаний обучающихся; доступ к любому учебному фрагменту для всех учащихся. Все эти факторы позволяют создать единую образовательную среду с возможностью для инклюзивного образования. Но, по мнению ряда авторов, цифровая среда существенно повышает риск ухудшения здоровья обучающихся при широкомасштабной компьютеризации образовательных организаций [11].

Нерациональное использование ЭУ молодежью может привести к негативным последствиям: уходу от реальности, жизни в виртуальном мире, отрицательному воздействию на функциональное и психоэмоциональное состояние здоровья и др. [12–15]. Так, при изучении интенсификации и информатизации обучения в образовательных организациях Иркутска было доказано, что повышенные уровни этих показателей снижают умственную работоспособность, замедляют интеллектуальное развитие, повышают уровни тревожности и гиперактивности у детей [16].

На сегодняшний день существует несколько нормативно-методических документов, устанавливающих требования к работе детей и подростков с электронными устройствами. Среди них: СанПиН 2.2.2/2.4 1340-03 «Гигиенические требования к персональным электронно-вычислительным машинам и организации работы»; СанПиН 2.4.1.3049-13 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, содержанию и организации режима работы дошкольных образовательных учреждений»; СанПиН 2.4.2.2821-10 «Гигиенические требования к условиям обучения в общеобразовательных учреждениях»; методические рекомендации «Гигиеническая оценка ридеров и их использование в образовательных организациях» и др. Однако большинство из них предназначены для работы со стационарными ЭУ, не учитывают использование мобильных, кроме того, ориентированы в основном на использование ЭУ в образовательном процессе и значительно меньше внимания уделяют использованию ЭУ в досуговой деятельности, что делает актуальным дальнейшие исследования по гигиенической регламентации суммарного использования ЭУ подростками.

В 2015 г. правительством Российской Федерации принята Концепция информационной безопасности детей. Исходя из ее положений, необходимо создать такие условия информационной среды, которые обеспечивали бы позитивную социализацию и индивидуализацию, оптимальное социальное, личностное, познавательное и физическое развитие, сохранение психического и

психологического здоровья и благополучия, а также формирование позитивного мировосприятия [17]. И если работы, посвященные влиянию использования ЭУ на психическое, психологическое и функциональное состояние организма молодежи, а также разработке гигиенических требований по использованию ЭУ, в литературе представлены, то изучение влияния использования ЭУ на физическое развитие подросткового поколения ранее не проводили. В соответствии с этим для обеспечения оптимального физического развития, предусмотренного Концепцией, необходимо решить вопрос о регламентации использования ЭУ.

Целью работы было установить характер и степень влияния использования ЭУ на физическое развитие современной молодежи и дать рекомендации по регламенту использования ЭУ в режиме дня для профилактики возникновения отклонений в физическом развитии.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании, проводившемся в 2017–2018 гг. участвовали 460 старших школьников Московского региона и 598 студентов из Москвы, Воронежа, Архангельска. Критерии включения в исследование: старшеклассники или студенты любого пола; наличие подписанного информированного согласия; средний возраст школьников — 16 лет, средний возраст студентов — 20 лет, так как в этот возрастной период школьники и студенты планируют использование ЭУ в режиме дня самостоятельно, без внешних ограничений. Критерии исключения: иной возраст. Показатели физического развития обладают достаточной инертностью во времени, поэтому говоря о влиянии ЭУ, нужно учитывать «стаж» их использования, т. е. длительность действия фактора. Поэтому выбор именно этих возрастных групп обусловлен тем, что их представители имеют уже длительный «стаж» использования ЭУ (10 лет и более).

Многоцентровые исследования проводили в образовательных организациях, различающихся по своему типу (общеобразовательные, с углубленным изучением предметов, гимназии); вузах, различающихся по профилю подготовки (специальности «здравоохранение и медицинские науки» и «математика и механика») и расположенных в регионах с различными климатическими и другими условиями.

На первом этапе изучали физическое развитие школьников и студентов с помощью стандартной антропометрической методики и инструментария. Длину тела (см) измеряли с помощью штангового антропометра с точностью до 0,5 см; массу тела (кг) измеряли на медицинском анализаторе InBody 230 (Biospace; Южная Корея) с точностью до 100 г. Оценку физического развития проводили путем сравнения показателей, полученных у обследованного, с региональными шкалами регрессии массы тела по длине тела, имеющимися для регионов, в которых проводили исследование.

Учитывая, что для определения воздействия фактора на процессы роста и развития и особенно возникновения отклонений в физическом развитии не всегда бывает достаточно измерений только длины и массы тела с последующей их оценкой, был проведен анализ состава тела с помощью медицинского анализатора InBody 230 (Biospace; Южная Корея), который позволил получить данные о мышечной массе тела (кг), жировой массе тела (кг), индексе массы тела (кг/м<sup>2</sup>), а также рекомендации



по контролю жировой и мышечной масс тела (сколько испытуемому рекомендуется сбросить/прибавить) (кг). Использовались референсные значения показателей для взрослых и детей, установленные для жителей «западных» стран и заложенные в программное обеспечение медицинского анализатора; для оценки индекса массы тела использовали стандарт ВОЗ, когда идеальными считают значения в пределах 18,5–24,9 кг/м<sup>2</sup>.

Формирование отклонений в физическом развитии часто связывают с соматотипами, поэтому исследование было дополнено определением конституционального типа по схеме В. Г. Штефко и А. Д. Островского в модификации С. С. Дарской [18]. Характеристика соматотипов представлена в табл. 1.

Для оценки психоэмоционального состояния студентов использовали тест Спилберга–Ханина [19].

На втором этапе исследования для оценки использования ЭУ проводили анкетирование с применением стандартизированных опросников, разработанных в НИИ гигиены и охраны здоровья детей и подростков ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» [20]. Опросники позволяли оценить частоту использования каждого вида ЭУ и суммарного их количества в неделю, а также длительность использования в часах в день.

На третьем этапе полученные данные были подвергнуты статистической обработке с использованием Statistica 10.0 (StatSoft; США): рассчитывали средние арифметические величины (Mean), квадратические ошибки средних (Std. err. of mean), средние квадратические отклонения (Std. dev.); для оценки значимости различий средних величин использовали *t*-критерий Стьюдента; для описания статистической связи количественных показателей с непрерывной изменчивостью использовали критерий корреляции Пирсона; для описания статистической связи качественных показателей с небольшим числом дискретных вариантов использовали построение таблиц сопряженности, связи между показателями описывали с помощью коэффициента сопряженности Пирсона.

Для установления вероятности появления определенного исхода в статистической группе в зависимости от определенного фактора использовали расчет относительных рисков (RR). Были построены четырехпольные таблицы сопряженности, значения которых анализировали при помощи онлайн-калькулятора для медицинской статистики [21]. Рассчитывали 95%-е доверительные интервалы.

Проведенная статистическая обработка была направлена на подтверждение гипотезы о влиянии частоты

и длительности использования ЭУ молодежью на их физическое развитие.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе были изучены основные показатели физического развития школьников и студентов — длина и масса тела, которые имели типичные возрастные и половые особенности, у студентов не было выявлено региональных различий (табл. 2). На основании оценки физического развития с помощью региональных шкал регрессии установлено, что только 60,6 ± 1,2% обследованных школьников (мальчиков) и 56,8 ± 2,4% студентов (юношей), 61,2 ± 2,7% школьниц и 63,3 ± 1,5% студентов имели нормальное (гармоничное) физическое развитие.

Среди школьников средний индекс массы тела (ИМТ) у мальчиков составил 21,1 ± 3,2 кг/м<sup>2</sup>, у девочек — 20,1 ± 3,3 кг/м<sup>2</sup>. Среди студентов у юношей этот показатель составил 23,04 ± 3,7 кг/м<sup>2</sup>, у девушек — 21,28 ± 3,5 кг/м<sup>2</sup> соответственно. Согласно стандартам ВОЗ, для данных возрастных групп нормальными можно считать значения ИМТ, находящиеся в пределах 18,5–24,9 кг/м<sup>2</sup>. Среди студентов значение ИМТ выше 25 кг/м<sup>2</sup> было выявлено у 20,3% юношей и у 15,6% девушек соответственно.

Было обнаружено большое количество отклонений в физическом развитии за счет как дефицита, так и избытка массы тела. Отклонения за счет дефицита массы тела среди школьников имели 24,2 ± 1,5% мальчиков и 30,6 ± 2,1% девочек, среди студентов — 10,5 ± 1,2% юношей, и 21,8 ± 2,3% девушек. Отклонения за счет избытка массы тела имели 12,2 ± 2,1% школьников, 6,2 ± 1,1% школьниц, 24,6 ± 1,2% студентов и 12,0 ± 1,5% студенток. У остальных выявлено ожирение различной степени. У школьников преобладали отклонения за счет дефицита массы тела, в то время как у студентов — за счет избытка массы тела.

Анализ состава тела показал, что с возрастом происходит достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение средней жировой массы вне зависимости от пола, при этом длина тела остается стабильной. В то же время необходимо отметить, что с возрастом достоверного увеличения мышечной массы вне зависимости от пола не происходит. Таким образом, можно наблюдать негативную тенденцию: с возрастом не увеличивается число лиц, имеющих нормальное физическое развитие, за счет формирования мышечной массы у лиц с дефицитом массы тела. Масса тела с возрастом возрастает, но в основном за счет жировой массы. Поэтому лица, имеющие избыток массы тела, не только не теряют жировую массу, но и продолжают ее

Таблица 1. Характеристика конституциональных типов

Соматотип	Признаки	Склонность к формированию дефицита массы тела	Склонность к формированию избытка массы тела
Астеноидный, «слабый»	Узкое телосложение, плоская грудная клетка, острый эпигастральный угол, слабое развитие мускулатуры и жиротложения	Да	Нет
Торакальный, «слабый»	Узкое телосложение, цилиндрическая грудная клетка, острый эпигастральный угол, среднее развитие мускулатуры, часто пониженное жиротложение	Да/нет	Нет
Мышечный, «сильный»	Широкое телосложение, равномерное развитие грудной клетки в длину и ширину (цилиндрическая форма), прямой эпигастральный угол, среднее или повышенное развитие мускулатуры и жиротложения	Нет	Нет/да
Дигестивный, «сильный»	Широкое телосложение, короткая расширенная книзу грудная клетка (коническая форма), эпигастральный угол прямой или тупой, среднее развитие мускулатуры и повышенное жиротложение	Нет	Да

Таблица 2. Характеристика конституциональных типов

Показатели физического развития	Школьники		Студенты	
	мальчики	девочки	юноши	девушки
Длина тела, см	175,5 ± 0,4	165,4 ± 0,5*	176,9 ± 0,5	165,9 ± 0,3
Масса тела, кг	65,0 ± 1,0	55,2 ± 1,1*	72,4 ± 0,9**	58,7 ± 0,7**
Жировая масса, кг	10,1 ± 0,2	13,0 ± 0,1*	13,9 ± 0,2**	15,9 ± 0,3**
Контроль жировой массы, кг (сколько обследованному рекомендуется сбросить/добавить килограммов)	0,2 ± 0,01	0,2 ± 0,01	-2,5 ± 0,05	-2,4 ± 0,04
Мышечная масса, кг	30,1 ± 0,7	22,9 ± 0,8*	33,0 ± 0,5	23,3 ± 0,7
Контроль мышечной массы, кг (сколько обследованному рекомендуется сбросить/добавить килограммов)	3,7 ± 0,7	3,9 ± 0,6	1,8 ± 0,4	3,6 ± 0,5

Примечание: \*  $p < 0,05$  — между мальчиками-школьниками и девочками-школьницами; \*\*  $p < 0,05$  — между школьниками и студентами.

Таблица 3. Относительный риск формирования отклонений в физическом развитии у школьников и студентов в зависимости от частоты использования стационарных ЭУ

Исходы	Фактор	RR (относительный риск)	EF, % (этиологическая составляющая)	Se (чувствительность метода)	Sp (специфичность метода)
Дефицит массы тела	Частота использования стационарного ЭУ (ежедневно)	2,13	23,6	0,29	0,88
Избыток массы тела	Частота использования стационарного ЭУ (ежедневно)	1,59	9,8	0,67	0,47

увеличивать. В результате, согласно анализу состава тела, как школьникам, так и студентам необходимо увеличить мышечную массу в среднем на 2–4 кг; студентам так же необходимо уменьшить жировую массу в среднем на 2,5 кг (табл. 2).

Исследование физического развития было дополнено определением соматотипов: относительно «слабые» типы (астеноидный и торакальный) составили примерно 40,0%, относительно «сильные» типы (мышечный и дигестивный) — 25,0%, у остальных школьников был неопределенный соматотип, что в целом типично для распределения в популяции. Была установлена сопряженность отклонений в физическом развитии за счет избытка массы тела с дигестивным соматотипом (коэффициент сопряженности Пирсона 0,72;  $p < 0,005$ ).

Выявленное большое количество отклонений в физическом развитии школьников и студентов требует поиска причин и, в частности, определения роли использования ЭУ в формировании данной негативной тенденции.

На втором этапе в результате анкетирования школьников и студентов установлено, что они ежедневно используют различные ЭУ (в порядке убывания по популярности): мобильный телефон, ноутбук, планшет, компьютер. Лица, не использующие ЭУ, составили 0,5%. Достоверных различий между мальчиками и девочками, юношами и девушками, школьниками и студентами не выявлено, региональных особенностей также не установлено, что свидетельствует в пользу широкой распространенности явления в молодежной среде.

Представляется важным установленный факт ежедневного сочетанного использования различных электронных устройств — как минимум, двух. Из них обязательно используют мобильный телефон, относящийся к мобильным ЭУ. Вторым наиболее часто используемым ЭУ является стационарный компьютер или ноутбук (коэффициент сопряженности Пирсона для сочетания ежедневного использования мобильного телефона и компьютера или ноутбука составляет 0,5;  $p < 0,001$ ).

Возможность сочетать мобильные и стационарные ЭУ позволяет школьникам и студентам долговременно

пользоваться данными устройствами в течение дня. Суммарная средняя длительность использования стационарных и мобильных ЭУ в обычный учебный день в учебной и досуговой деятельности современных старшеклассников (и мальчиков, и девочек) составляет 7 ч; студентов — 8,5 ч, студенток — 10 ч; региональных особенностей не установлено.

На третьем этапе было рассмотрено, как частое (ежедневное) и длительное (в часах) использование ЭУ влияет на возникновение отклонений в физическом развитии за счет дефицита и избытка массы тела у школьников и студентов.

Был проведен анализ рисков. Выявление факторов риска и оценка их значимости позволят разработать методы снижения данных рисков и уменьшить связанные с ними неблагоприятные последствия — формирование отклонений в физическом развитии молодежи (табл. 3).

Для дефицита массы тела относительный риск составил 2,13 (DI: 2,01–2,21), т. е. фактор ежедневного использования стационарного ЭУ повышает риск формирования у школьников и студентов отклонений в физическом развитии за счет дефицита массы тела, а значит повышает частоту неблагоприятных исходов. Этиологическая составляющая достигает почти 24%; безусловно, действуют и другие факторы.

Для избытка массы тела относительный риск составил 1,59 (DI: 1,11–3,15), этиологическая составляющая — 9,8%.

Риск при использовании мобильных ЭУ и для использования ЭУ с другой частотой в неделю установлен не был. Можно предположить, что использование стационарных ЭУ приводит к снижению двигательной активности и тем самым влияет на возникновение отклонений в физическом развитии.

Однако анализ корреляционных связей между значением жировой массы и длительностью (в часах) использования как стационарных, так и мобильных ЭУ показывает, что существуют статистически значимые ( $p < 0,05$ ) корреляционные связи между значением жировой массы и длительностью использования стационарного ЭУ (компьютера или ноутбука) (0,45), а также длительностью использования мобильного телефона (0,55). Можно

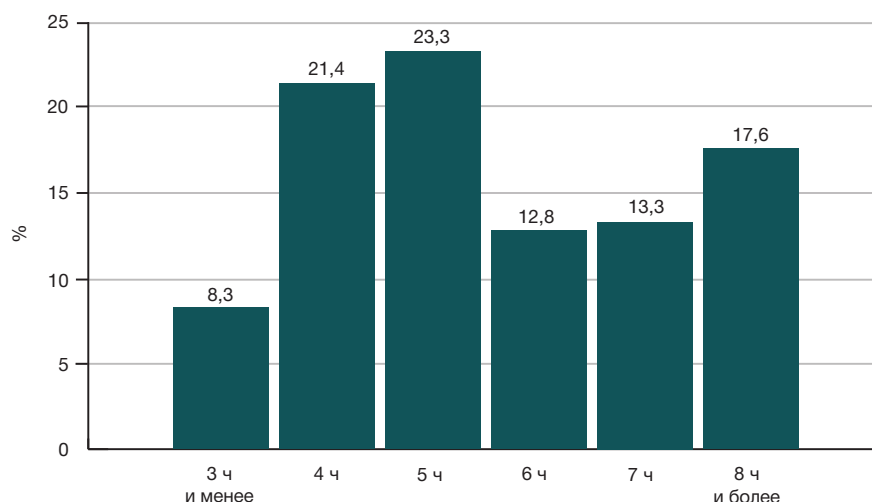


Рис. 1. Дефицит массы тела у школьников и студентов при различной длительности (в часах) использования ЭУ в день

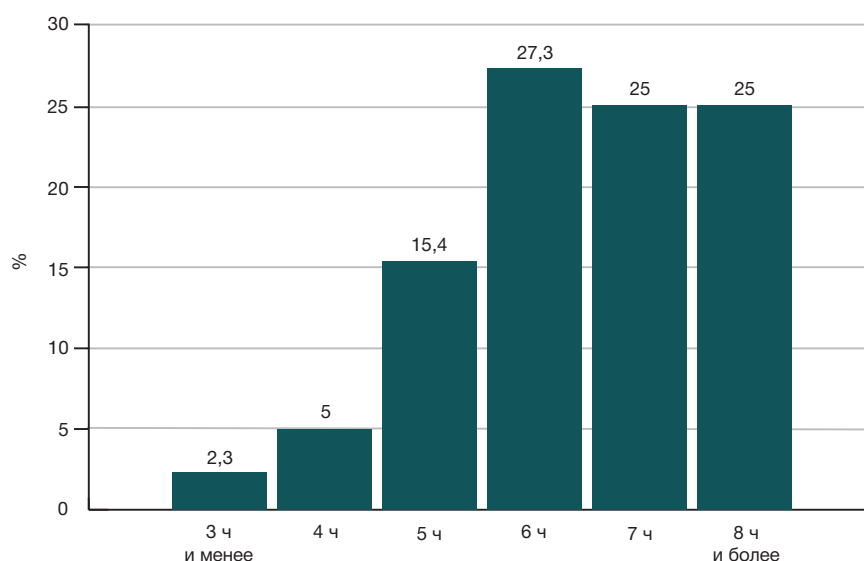


Рис. 2. Избыток массы тела у школьников и студентов при различной длительности в часах использования ЭУ в день

предположить, что мобильный телефон, длительно используемый в зонах wi-fi, которые организованы в транспорте, торгово-развлекательных центрах и даже парках, превращают его в стационарное ЭУ, поскольку предполагается, что пользователь имеет возможность сидеть.

Далее был проведен анализ по установлению «суммарного» времени использования в течение дня стационарных и мобильных ЭУ, которое бы не оказывало негативного влияния на физическое развитие школьников и студентов (рис. 1–2).

Анализируя данные, можно констатировать, что безопасным является «суммарное» время использования ЭУ в учебной и досуговой деятельности старшеклассников и студентов, составляющее до 3 ч в день. Если учитывать, что в популяции всегда есть дети, подростки и молодежь, имеющие отклонения в физическом развитии, то отклонения за счет избыточной массы тела в 5,0% при использовании ЭУ в день до 4 ч можно было бы считать допустимым, если бы не резкое увеличение отклонений за счет дефицита массы тела при использовании 4 часа в день — до 21,0%.

Был также представлен анализ того, как формируются отклонения в физическом развитии школьников с разными соматотипами в зависимости от различной частоты

использования стационарных ЭУ (компьютера и ноутбука) в неделю.

Так, при использовании школьниками ЭУ 1–2 раза в неделю отклонения за счет дефицита массы тела выявлены только у детей с астеноидным соматотипом (100%); при использовании 3–4 раза в неделю — у детей с астеноидным соматотипом (80%) и мышечным соматотипом (20%); при ежедневном использовании — у детей с астеноидным соматотипом (60%), мышечным соматотипом (20%) и торакальным соматотипом (20%). Таким образом, при ежедневном использовании ЭУ дефицит массы тела может возникнуть не только у лиц «слабого» соматотипа, для которого это характерно, но и у лиц «сильного» мышечного соматотипа, для которого это нехарактерно.

Что касается избытка массы тела, то при использовании школьниками ЭУ 1–2 раза в неделю он формируется у детей с дигестивным соматотипом (100%); при использовании 3–4 раза в неделю — у детей с дигестивным соматотипом (75%) и торакальным соматотипом (25%); при ежедневном использовании — у детей с дигестивным соматотипом (50%), торакальным соматотипом (25%) и мышечным соматотипом (25%). Таким образом, при ежедневном использовании ЭУ избыток массы тела может возникнуть даже у лиц «слабого» торакального соматотипа, для которого это нехарактерно.

Кроме того, после частого и длительного сочетанного использования стационарных и мобильных ЭУ школьники и студенты предъявляют жалобы на выраженную усталость (26% школьников и 58% студентов). Длительность использования ЭУ оказывает также влияние на формирование ситуативной тревожности у студентов. Для студентов, использующих ЭУ больше 5 ч в сутки, характерен высокий уровень тревожности ( $48,2 \pm 2,6$  баллов), для студентов, использующих ЭУ 3–5 ч, — умеренный уровень тревожности ( $42,1 \pm 1,6$  баллов) и у студентов, использующих ЭУ 1–3 ч, — тоже умеренный уровень тревожности ( $36,1 \pm 1,2$  баллов). Проведенный корреляционный анализ выявил статистически значимые связи между тревожностью и временем (в часах) использования ЭУ ( $r = 0,66$ ;  $p < 0,05$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В популяции детей, подростков и молодежи всегда присутствовали лица, имеющие отклонения в физическом развитии. Так, в последнее десятилетие в мегаполисе Москве установлена тенденция к увеличению числа школьников 8–17 лет с избыточной массой тела до 11,5% и дефицитом массы тела до 22,3%, что согласуется с данными и других авторов [22, 23].

Наши результаты показывают, что число отклонений в физическом развитии возрастает. Нормальное физическое развитие выявлено нами в среднем только у 60% обследованных школьников и студентов, причем этот факт не связан с регионом проживания или типом образовательного учреждения. По данным популяционных исследований, проведенных до эпохи массового использования ЭУ молодежью, среднее число лиц с нормальным физическим развитием в популяции составляло 68% [22]. Выявленная негативная тенденция потребовала определить роль использования ЭУ в возникновении отклонений в физическом развитии молодежи.

Частое и длительное использование ЭУ существенно меняет образ жизни современных школьников и студентов, нарушая соотношение основных компонентов их образа жизни: снижает количество времени, отведенное на двигательную активность и ночной сон [24, 25].

Чрезмерное использование ЭУ студентами, увлечение современными ИКТ существенно меняет их благополучие. Изменения носят отрицательный характер, они негативно влияют на функциональное состояние организма, вызывают повышение уровня тревоги и нарушение сна [26, 27].

Результаты нашего исследования позволили установить характер и степень влияния использования ЭУ на физическое развитие современной молодежи. Показано, что ежедневное использование стационарных ЭУ увеличивает риск возникновения у подрастающего поколения нарушений в физическом развитии за счет дефицита массы тела на 24% и избытка массы тела на 10%. Поскольку риск при другой частоте использования стационарных ЭУ установлен не был, можно говорить о том, что эффективным профилактическим мероприятием может стать отказ от использования компьютера и ноутбука на 1 день в неделю, например в воскресный день, что позволило бы также выделить резерв времени для повышения двигательной активности.

В пользу такого предложения свидетельствует установленный в данном исследовании факт, что использование стационарных ЭУ 1–2 раза в неделю приводит к формированию отклонений в физическом развитии только

у лиц со склонным к этому соматотипом: отклонения за счет дефицита массы тела формируются у школьников астеноидного соматотипа, а избытка массы тела — у дигестивного соматотипа. В то же время при использовании стационарных ЭУ ежедневно отклонения в физическом развитии могут возникнуть у лиц любого соматотипа.

Исследование показало, что использование ЭУ школьниками и студентами необходимо рассматривать как сочетанное и регламентировать именно суммарное время использования как стационарных, так и мобильных ЭУ в режиме дня как в учебной, так и в досуговой деятельности. Можно говорить о том, что эффективным профилактическим мероприятием могло бы стать ограничение использования в режиме дня стационарных и мобильных ЭУ до 3 ч в день. Однако необходимо помнить, что жесткая регламентация может вызвать негативную реакцию у молодежи, поэтому необходимо параллельно осуществлять работу по формированию ЗОЖ [28–30].

Поскольку показатели физического развития обладают некоторой инертностью, дополнительно было проведено исследование влияния использования ЭУ на более лабильные психоэмоциональные показатели. Установлено, что студенты, использующие стационарные и мобильные ЭУ до 3 ч в день, имеют более низкую ситуативную тревожность.

В объяснении полученных результатов ключевая роль принадлежит двигательной активности, а точнее ее дефициту, поскольку пользователи ЭУ часто вынуждены вести сидячий образ жизни. Дефицит двигательной активности препятствует, с одной стороны, формированию мышечной массы, а с другой стороны, способствует формированию жировой массы. Можно представить цепочку воздействия частого и длительного использования ЭУ на формирование отклонений в физическом развитии школьников и студентов следующим образом: частота и длительность использования ЭУ — увеличение занятий статического характера — снижение двигательной активности — снижение мышечной массы и увеличение жировой массы — формирование отклонений в физическом развитии.

Проведенное исследование, конечно, не охватывает всех возможных последствий частого и длительного использования ЭУ, так, например, возможно рассмотрение их влияния на показатели мышечной силы и жизненной емкости легких у подрастающего поколения.

## ВЫВОДЫ

Частое и длительное использование ЭУ молодежью служит одним из факторов, способных вызвать отклонения в физическом развитии. Однако, с точки зрения гигиены, этот фактор является управляемым и может быть регламентирован. Профилактические мероприятия по снижению роста отклонений в физическом развитии молодежи включают отказ от использования стационарных ЭУ, компьютера и ноутбука, на 1 день в неделю (в выходной день) и ограничение суммарного времени использования всех видов ЭУ до 3 ч в течение дня. В целях работы по гигиеническому воспитанию молодежи ограничение использования ЭУ должно идти параллельно с формированием установок на ведение здорового образа жизни у детей, подростков и молодежи, направленных на формирование культуры использования ЭУ и понимание роли двигательной активности в профилактике ожирения и других заболеваний.



## Литература

1. Бухтияров И. В., Денисов Э. И., Еремин А. Л. Основы информационной гигиены: концепции и проблемы инноваций. Гигиена и санитария. 2014; 93 (4): 5–9.
2. Кучма В. Р., Сухарева Л. М., Храмцов П. И. Гигиеническая безопасность жизнедеятельности детей в цифровой среде. Здоровье населения и среда обитания. 2016; 8 (281): 4–7.
3. Ушаков И. Б., Попов В. И., Попова О. А. Некоторые аспекты экологической безопасности человека в условиях хронического воздействия импульсов электромагнитных полей. Экология человека. 2018; (1): 3–7.
4. Денисов Э. И. Информационная гигиена и регулирование информации для уязвимых групп населения. Гигиена и санитария. 2014; 93 (5): 43–9.
5. Вятлева О. А., Курганский А. М. Мобильные телефоны и здоровье детей 6–10 лет: значение временных режимов и интенсивность излучения. Здоровье населения и среда обитания. 2017; 8 (293): 27–30.
6. Попов В. И., Мелихова Е. П. Изучение и методология исследования качества жизни студентов. Гигиена и санитария. 2016; 95 (9): 879–84.
7. Вершинин А. Е., Авдоница Л. А. Влияние сотовых телефонов на здоровье человека. Вестник Пензенского государственного университета. 2015; 3 (11): 175–7.
8. Васильева Т. И., Сарокваша О. Ю. Влияние электромагнитного поля сотового телефона на организм человека в зависимости от возраста. Вестник Самарского государственного университета. 2012; 3/2 (94): 29–36.
9. Казарян К. Р., Плуготаренко С. А., Воробьева Е. Н., Давыдов С. Г., Левова И. Ю., Ишунькина И. В. и др. Интернет в России в 2017. Состояние, тенденции и перспективы развития. Отраслевой доклад. М.: Типография «Форвард Принт», 2018; 96 с.
10. Вятлева, О. А. Мобильные телефоны и здоровье детей 6–10 лет: значение временных режимов и интенсивность излучения. Здоровье населения и среда обитания. 2017; 8 (293): 27–30.
11. Кучма В. Р., Сухарева Л. М., Храмцов П. И. Современные подходы к обеспечению гигиенической безопасности жизнедеятельности детей в гиперинформационном обществе. Вопросы школьной и университетской медицины и здоровья. 2015; (3): 22–7.
12. Соколова Н. В., Попов В. И., Алферова С. И., Артюхова И. Г., Кварацхелия А. Г. Комплексный подход к гигиенической оценке качества жизни студенческой молодежи. Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2013; 3–2 (91): 130–4.
13. Wimalasundera S. Computer vision syndrome. Galle Medical. 2006; 11 (1): 201–4.
14. Lepp A, Barclay JE, Karpinski AC. The relationship between cell phone use, academic performance, anxiety, and Satisfaction with Life in college students. Computers in Human Behavior. 2014; (31): 343–50.
15. Lanaj K, Johnson RE, Barnes CM Beginning the workday yet already depleted? Consequences of late-night smartphone use and sleep. Organizational Behavior and Human Decision Processes. 2014; 124 (1): 11–23.
16. Кучма В. Р., Ткачук Е. А., Тармаева И. Ю. Психофизиологическое состояние детей в условиях информатизации их жизнедеятельности и интенсификации образования. Гигиена и санитария. 2016; 95 (12): 1183–8.
17. Концепция информационной безопасности детей. Распоряжение правительства РФ № 2471-р (02 декабря 2015). Доступно по ссылке: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_190009/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_190009/).
18. Баранов А. А., Кучма В. Р., Скоблина Н. А. Физическое развитие детей на рубеже тысячелетий. М.: НЦЗД РАМН, 2008; 216 с.
19. Кучма В. Р., Ушаков И. Б. и др. Методы оценки качества жизни школьников. Воронеж: Истоки, 2006; 112 с.
20. Кучма В. Р., Сухарева Л. М., Храмцов П. И., Рапопорт И. К., Звездина И. В., Соколова С. Б. и др. Руководство по гигиене детей и подростков, медицинскому обеспечению обучающихся в образовательных организациях. М.: Изд-во НЦЗД РАМН, 2016; 610 с.
21. Медицинская статистика: онлайн-калькуляторы для расчета статистических критериев. Доступно по ссылке: <https://medstatistic.ru/calculators.html>.
22. Бокарева Н. А. Ведущие факторы, формирующие физическое развитие современных детей мегаполиса Москвы [диссертация]. М., 2014.
23. Кучма В. Р., Сухарева Л. М., Рапопорт И. К. Популяционное здоровье детского населения, риски здоровью и санитарно-эпидемиологическое благополучие обучающихся: проблемы, пути решения, технологии деятельности. Гигиена и санитария. 2017; 96 (10): 990–5.
24. Милушкина О. Ю., Маркелова С. В., Скоблина Н. А., Татаринчик А. А., Федотов Д. М., Королик В. В. и др. Особенности образа жизни современной студенческой молодежи. Здоровье населения и среда обитания. 2018; 11 (308): 5–8.
25. Корденко А. Н., Ковылова В. И., Попов В. И., Тарасенко П. А. Критические факторы качества жизни подростков. Гигиена и санитария. 2015; 94 (9): 20–1.
26. Ушаков И. Б., Попов В. И., Петрова Т. Н., Есауленко И. Э. Изучение здоровья студентов как результат взаимодействия медико-биологических, экологических и социально-гигиенических факторов риска. Медицина труда и промышленная экология. 2017; (4): 33–6.
27. Либина И. И., Мазуренко Н. Ю. Использование современных информационных технологий в гигиеническом обучении студентов медицинского вуза. Прикладные информационные аспекты медицины. 2016; 19 (4): 39–42.
28. Кучма В. Р., Милушкина О. Ю., Бокарева Н. А., Скоблина Н. А. Современные направления профилактической работы в образовательных организациях. Гигиена и санитария. 2014; 93 (6): 107–11.
29. Баранов А. А., Кучма В. Р., Ануфриева Е. В., Соколова С. Б., Скоблина Н. А., Виравова А. Р. и др. Оценка качества оказания медицинской помощи обучающимся в образовательных организациях. Вестник Российской академии медицинских наук. 2017; 72 (3): 180–94.
30. Соколова Н. В., Попов В. И., Картышева С. И., Королева А. О. Некоторые аспекты профилактической деятельности учителя, направленной на улучшение состояния здоровья школьников. Гигиена и санитария. 2014; 93 (1): 90–1.

## References

1. Buhtijarov IV, Denisov JI, Eremin AL. Osnovy informacionnoj gigieny: koncepcii i problemy innovacij. Gigiena i sanitarija. 2014; 93 (4): 5–9. Russian.
2. Kuchma VR, Suhareva LM, Hramcov PI. Gigienicheskaja bezopasnost' zhiznedejatel'nosti detej v cifrovoj srede. Zdorov'e naselenija i sreda obitaniya. 2016; 8 (281): 4–7. Russian.
3. Ushakov IB, Popov VI, Popova OA. Nekotorye aspekty jekologicheskoy bezopasnosti cheloveka v uslovijah hronicheskogo vozdejstvija impul'sov jelektromagnitnyh polej. Jekologija cheloveka. 2018; (1): 3–7. Russian.
4. Denisov JI. Informacionnaja gigiena i regulirovanie informacii dlja uязvimyh grupp naselenija. Gigiena i sanitarija. 2014; 93 (5): 43–9. Russian.
5. Vjatleva OA, Kurganskij AM. Mobil'nye telefony i zdorov'e detej 6–10 let: znachenie vremennyh rezhimov i intensivnost' izlucheniya. Zdorov'e naselenija i sreda obitaniya. 2017; 8 (293): 27–30. Russian.
6. Popov VI, Melihova EP. Izuchenie i metodologija issledovaniya kachestva zhizni studentov. Gigiena i sanitarija. 2016; 95 (9): 879–84. Russian.

7. Vershinin AE, Avdonina LA. Vliyanie sotovyyh telefonov na zdorov'e cheloveka. Vestnik Penzenskogo gosudarstvennogo universiteta. 2015; 3 (11): 175–7. Russian.
8. Vasileva TI, Sarokvasha OJ. Vliyanie jelektronnogo polja sotovogo telefona na organizm cheloveka v zavisimosti ot vozrasta. Vestnik Samarskogo gosudarstvennogo universiteta. 2012; 3/2 (94): 29–36. Russian.
9. Kazarjan KR, Plugotarenko SA, Vorob'eva EN, Davydov SG, Levova IJu, Ishunkina IV, i dr. Internet v Rossii v 2017. Sostojanie, tendencii i perspektivy razvitiya. Otrasevoj doklad. M.: Tipografija «Forvard Print», 2018; 96 s. Russian.
10. Vyatleva OA. Mobil'nye telefony i zdorov'e detej 6–10 let: znachenie vremennyh rezhimov i intensivnost' izlucheniya. Zdorov'e naselenija i sreda obitaniya. 2017; 8 (293): 27–30. Russian.
11. Kuchma VR, Suhareva LM, Hramcov PI. Sovremennye podhody k obespecheniju gigienicheskoy bezopasnosti zhiznedejatel'nosti detej v giperinformacionnom obshchestve. Voprosy shkol'noj i universitetskoj mediciny i zdorov'ja. 2015; (3): 22–7. Russian.
12. Sokolova NV, Popov VI, Alferova SI, Artjuhova IG, Kvarachelija AG. Kompleksnyj podhod k gigienicheskoy ocenke kachestva zhizni studencheskoj molodezhi. Bjulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo centra Sibirskogo otdeleniya Rossijskoj akademii medicinskih nauk. 2013; 3–2 (91): 130–4. Russian.
13. Wimalasundera S. Computer vision syndrome. Galle Medical. 2006; 11 (1): 201–4.
14. Lepp A, Barclay JE, Karpinski AC. The relationship between cell phone use, academic performance, anxiety, and Satisfaction with Life in college students. Computers in Human Behavior. 2014; (31): 343–50.
15. Lanaj K, Johnson RE, Barnes CM Beginning the workday yet already depleted? Consequences of late-night smartphone use and sleep. Organizational Behavior and Human Decision Processes. 2014; 124 (1): 11–23.
16. Kuchma VR, Tkachuk EA, Tarmaeva IJu. Psihofiziologicheskoe sostojanie detej v uslovijah informatizacii ih zhiznedejatel'nosti i intensivnosti obrazovaniya. Gigiena i sanitarija. 2016; 95 (12): 1183–8. Russian.
17. Konceptiya informacionnoj bezopasnosti detej. Rasporjazhenie pravitel'stva RF № 2471-r (02 dekabrja 2015). Russian.
18. Baranov AA, Kuchma VR, Skobolina NA. Fizicheskoe razvitiye detej na rubezhe tysjacheletij. M.: NCZD RAMN, 2008; 216 s. Russian.
19. Kuchma VR, Ushakov IB, Sokolova NV, Rapoport IK, Esaulenko IJe, Gubina OI, i dr. Metody ocenki kachestva zhizni shkol'nikov. Voronezh: Istoki, 2006; 112 s. Russian.
20. Kuchma VR, Suhareva LM, Hramcov PI, Rapoport IK, Zvezdina IV, Sokolova SB, i dr. Rukovodstvo po gigiene detej i podrostkov, medicinskomu obespecheniju obuchajushhimsja v obrazovatel'nyh organizacijah. M.: Izd-vo NCZD RAMN, 2016; 610 s. Russian.
21. Medicinskaya statistika: onlajn kal'kulyatory dlja rascheta statisticheskikh kriteriev. Dostupno po ssylke: <https://medstatistic.ru/calculators.html>.
22. Milushkina OJ, Markelova SV, Skobolina NA, Tatarinchik AA, Fedotov DM, Korolik VV, i dr. Osobennosti obraza zhizni sovremennoj studencheskoj molodezhi. Zdorov'e naselenija i sreda obitaniya. 2018; 11 (308): 5–8. Russian.
23. Kordenko AN, Kovylova VI, Popov VI, Tarasenko PA. Kriticheskie faktory kachestva zhizni podrostkov. Gigiena i sanitarija. 2015; 94 (9): 20–1. Russian.
24. Bokareva NA. Vedushhie faktory, formirujushhie fizicheskoe razvitiye sovremennyh detej megapolisa Moskvy [dissertacija]. M., 2014. Russian.
25. Kuchma VR, Suhareva LM, Rapoport IK. Populjacionnoe zdorov'e detskogo naselenija, riski zdorov'ju i sanitarno-jepidemiologicheskoe blagopoluchie obuchajushhimsja: problemy, puti reshenija, tehnologii dejatel'nosti. Gigiena i sanitarija. 2017; 96 (10): 990–5. Russian.
26. Ushakov IB, Popov VI, Petrova TN, Esaulenko IJ. Izuchenie zdorov'ja studentov kak rezul'tat vzaimodejstviya mediko-biologicheskikh, jekologicheskikh i social'no-gigienicheskikh faktorov riska. Medicina truda i promyshlennaja jekologija. 2017; (4): 33–6. Russian.
27. Libina II, Mazurenko NJ. Ispolzovanie sovremennyh informacionnyh tehnologij v gigienicheskom obuchenii studentov medicinskogo vuza. Prikladnye informacionnye aspekty mediciny. 2016; 19 (4): 39–42. Russian.
28. Kuchma VR, Milushkina OJ, Bokareva NA, Skobolina NA. Sovremennye napravlenija profilakticheskoy raboty v obrazovatel'nyh organizacijah. Gigiena i sanitarija. 2014; 93 (6): 107–11. Russian.
29. Baranov AA, Kuchma VR, Anufrieva EV, Sokolova SB, Skobolina NA, Virabova AR, i dr. Ocenka kachestva okazaniya medicinskoj pomoshhi obuchajushhimsja v obrazovatel'nyh organizacijah. Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk. 2017; 72 (3): 180–94. Russian.
30. Sokolova NV, Popov VI, Kartysheva SI, Koroleva AO. Nekotorye aspekty profilakticheskoy dejatel'nosti uchitelja, napravlennoj na uluchshenie sostojaniya zdorov'ja shkol'nikov. Gigiena i sanitarija. 2014; 93 (1): 90–1. Russian.

## ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЙ ПУТЬ ВРАЧА: «БАРЬЕРЫ» ИДЕНТИЧНОСТИ

Э. Меттини<sup>1</sup>, Б. А. Ясько<sup>2</sup>✉, Б. В. Казарин<sup>2</sup>, М. Г. Остроушко<sup>3</sup><sup>1</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия<sup>2</sup> Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия<sup>3</sup> Краевая клиническая больница № 2, Краснодар, Россия

Незначительное по масштабам научное событие нередко оставляет след более выразительный, чем иная крупная конференция. В Российском национальном исследовательском медицинском университете имени Н. И. Пирогова 30–31 мая 2019 г. прошел симпозиум «Медицинские идентичности в разных обществах». Сделанные здесь доклады, обзоры, прошедшие в их контекстах дискуссии были посвящены проблеме идентичности — уникальному явлению, формирующемуся как результат от-refлексированности субъектом сложного многогранного динамического процесса личностного становления. Особую значимость, на наш взгляд, идентичность имеет в профессиональной жизни врача, что обусловило несомненную актуальность докладов и диалогов, составивших содержательность проведенного симпозиума, и целесообразность обобщения его результатов в виде предлагаемого читателю мнения.

**Ключевые слова:** врач, идентичность, Я-концепция, профессиональная идентичность, профессиональные барьеры, профессиональные кризисы, профессиогенез

**Благодарности:** авторы выражают благодарность всем участникам симпозиума «Медицинские идентичности в разных обществах» (РНИМУ имени Н. И. Пирогова, 30–31 мая 2019 г.), материалы выступлений которых позволили обобщить некоторые результаты научного взаимодействия в виде представленного мнения.

**Информация о вкладе авторов:** Э. Меттини — идея публикации; общее руководство подготовкой публикации; Б. А. Ясько — план публикации, систематизация понятий «идентичность», «кризисы идентичности» в исследованиях субъектов медицинского труда; Б. В. Казарин — идея анализа роли последилового образования в преодолении барьеров становления профессиональной идентичности врача-руководителя; М. Г. Остроушко — предоставление эмпирического материала, первичный анализ эмпирических данных.

✉ **Для корреспонденции:** Бэла Аслановна Ясько  
М. Седина, д. 4, г. Краснодар, 350063; shabela@yandex.ru

**Статья получена:** 06.08.2019 **Статья принята к печати:** 21.08.2019 **Опубликована онлайн:** 26.08.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.055

## A MEDICAL CAREER: BARRIERS TO PROFESSIONAL IDENTITY

Mettini E<sup>1</sup>, Yasko BA<sup>2</sup>✉, Kazarin BV<sup>2</sup>, Ostroushko MG<sup>3</sup><sup>1</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia<sup>2</sup> Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia<sup>3</sup> Regional Clinical Hospital № 2, Krasnodar, Russia

Sometimes, a minor scientific event leaves a much more memorable trace than a large conference. On May 30–31, 2019, Pirogov Russian National Research Medical University hosted a symposium on medical identities in various communities. Reports, reviews and discussions presented at the symposium focused on the problem of identity, a unique phenomenon that results from self-reflecting on a complex dynamic process of personal development. Professional identity is particularly important for a medical doctor. This article inspired by the reports of our colleagues summarizes the results of the symposium.

**Keywords:** physician, identity, self-concept, professional identity, barriers, professional crisis, professiogenesis

**Acknowledgement:** the authors thank all participants of the symposium on *Medical identities in different communities* held on May 30–31, 2019 at Pirogov Russian National Research Medical University) whose reports inspired us to write this article.

**Author contribution:** Mettini E conceived the article and supervised its preparation; Yasko BA planned the article, systematized the concepts of identity and identity crisis used in the studies of healthcare workers; Kazarin BV suggested analyzing the role of postgraduate education in overcoming the barriers to professional identity in medical doctors; Ostroushko MG provided and analyzed empirical data.

✉ **Correspondence should be addressed:** Bela F. Yasko  
Sedina 4, Krasnodar, 350063; shabela@yandex.ru

**Received:** 06.08.2019 **Accepted:** 21.08.2019 **Published online:** 26.08.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.055

## Феномен идентичности как предмет анализа в гуманитарных науках

На раскрытии феноменологии идентичности более полувек сосредоточено внимание гуманитарных наук, представляющих различные направления и концепции бытия человека и социумов, личностного становления, самореализации субъекта, преодоления им вызовов, кризисов на этапах жизненного пути, формирования личностных ресурсов жизненного стиля («*life-style resources*»). Идентификация как один из механизмов психологической защиты рассмотрена в классических работах психоанализа [1, 2]; как психологический

механизм личностного становления в подростково-юношеский период жизни — в эпигенетической концепции Э. Эриксона [3]. Идентичность исследуют в разнообразных по выделяемым ракурсам анализа философских, культурологических, социологических, лингвистических направлениях наук о человеке и его социальной природе. Так, в недавно проведенном лингвистическом исследовании высокая значимость семиотических ресурсов, используемых субъектом для конструирования и выражения идентичности, была рассмотрена в качестве одной из характеристик современного формирования этого сложного феномена [4]. Особое место в этом ряду занимает психология. Благодаря активности эмпирического поиска

исследователей в научном тезаурусе и в практике психологического консультирования устойчивые позиции заняли понятия личностной, гендерной, групповой, этнической, профессиональной, организационной идентичности. О научном интересе к раскрытию тайн феномена идентичности и идентификации свидетельствует, в частности, включение в программу XIV Европейского психологического конгресса (XIV European Congress of Psychology), проходившего в июле 2019 г. в Москве, симпозиума «Личностная идентичность в условиях многовекторных изменений в обществе» (*«Personal identity in the conditions of multi-vector changes in the society»*). Участники дискуссии отмечали, что глобальные и разнонаправленные изменения в современном мире все более обостряют процессы идентификации личности, в которые активно вторгаются новые социальные, технологические процессы, обусловленные, в частности, вступлением человечества в эпоху диджитализации (*«digital technologies»*). Исследователи, выступавшие на Конгрессе, отмечали, что новые явления идентификации констатируются при самопрезентации личности в виртуальном пространстве [5], при групповой рефлексии исторического опыта [6]. Возрастают риски усиления явлений социальной несостоятельности личности, отраженные эффектом «неподтвержденной» идентичности [7], кризисом гендерной идентичности [8].

#### **Профессиональная идентичность врача: таинства становления**

Понять феномен профессиональной идентичности врача — это, по меньшей мере, ответить на ряд вопросов, в частности: на каком этапе подготовки будущего специалиста она возникает; каким образом, под воздействием каких факторов, насколько интенсивно протекает этот процесс? Однако в поисках ответов долгое время не удавалось обнаружить значимой активности. Если рассматривать состояние данного тренда в целом в мировом научном пространстве, то следует отметить заметное внимание к проблеме личностного становления субъекта врачебного труда в зарубежных исследованиях. Особенно выражена попытка раскрыть истоки и механизмы формирования профессиональной идентичности на начальных этапах профессионализма. Например, профессиональную идентичность студентов медицинского вуза рассматривают как результат решения личностью сложных ценностных дилемм [9], как органичный сегмент личного пространства студента [10]. В этой связи нельзя не отметить некоторые российские работы [11]. В них профессиональная идентичность исследована в контексте повседневной практики молодого российского врача, реализующего клиническую деятельность в разных социальных пространствах (город федерального значения, малый город, село). Автор этих работ выделяет три типа профессиональной идентичности, в зависимости от преобладающей в сознании молодого врача центральной характеристики труда: «специалист-помощник» («врач — это помогающая профессия»); «специалист-эксперт» («врач — это специалист в определенной области медицины»); «специалист-ученый» («врач — это исследователь»; направленность субъекта на научную, академическую медицину).

Понятие «профессиональная идентичность» занимает, без преувеличения, центральное место в современной психологии труда, неся в себе целый спектр смысловых функций [12]. Отметим одну из них, значимую для

понимания сущностной составляющей компетентностного становления врача: профессиональная идентичность служит индикатором соответствия профессионала, его профессионального уровня и профессиональных достижений потребностям и запросам общества в области здравоохранения, а также требованиям профессионального сообщества, его корпоративной культуре [12]. Можно принять в качестве методологического ориентира исследований, раскрывающих сложность и многогранность психологических аспектов профессионализма личности врача, подход, согласно которому профессиональную идентичность рассматривают как сохранение самостождества личности в профессии [12]. Наряду с мотивационной сферой, профессиональная идентичность является детерминирующей инстанцией в формировании профессионализма врача.

С нашей точки зрения выраженную практическую значимость приобретает проблема рисков деструкции профессиональной идентичности, возникающих на разных этапах профессионального пути в виде специфических барьеров, разрешение которых способствует оптимизации процесса самоопределения в молодом возрасте и самореализации — в зрелые периоды жизни [13]. Делая профессиональный путь нелинейным, барьеры создают предпосылки для осмысления личностью векторов профессиональной карьеры, оберегают ее от стагнации, способствуют содержательному наполнению профессиональной идентичности. Барьеры персонифицируются, становясь индивидуально переживаемым событием, однако наши исследования показали, что есть и типичные барьеры, охватывающие весь профессиональный цикл в жизни врача. К ним, в первую очередь, относят профессиональные кризисы, преодоление которых сопровождает процесс самореализации личности в избранной сфере деятельности [14].

Первым барьером на пути в профессию является кризис оптации, когда молодой человек через борьбу мотивов, профессиональных предпочтений, создает профессиональный Я-образ и делает выбор в пользу врачебной деятельности. Этот кризис несет в себе мощный энергетический заряд: принятие решения («Я буду врачом») требует и принятия обязательств — готовить свои личные ресурсы к вступлению в продолжительный и сложный процесс профессионального образования. Результатом преодоления первого психологического барьера становится формирование так называемой *«достигнутой профессиональной идентичности»*.

В преодолении последующих кризисов на профессиональном пути идентичность приобретает наполнение за счет развития профессиональной самооценки и трансформации Я-образа в профессиональную Я-концепцию. К нормативным, т.е. объективно существующим, кризисам в профессиональной карьере врача мы относим: кризисы первого и третьего курсов; кризис выбора предмета врачебного труда (период специализации); кризис вступления в должность (начало профессионального пути); кризисы квалификационных испытаний; кризис «завершения карьеры».

Вместе с тем профессиональный путь субъекта клинической деятельности наполнен барьерами, при которых возникают риски деструкции профессиональной идентичности. Это так называемые «сверхнормативные» и «экстраординарные» профессиональные кризисы. В качестве примера приведем один из таких барьеров, при котором сверхнормативный характер приобретает



типичный для поступательного профессиогенеза кризис вступления в должность. Он становится сверхнормативным или даже приобретает черты экстраординарного с высоким стрессогенным наполнением при вынужденной смене уже сложившимся, признанным профессионалом врачебной специализации, места работы. В частности, кризис такого вида субъект переживает при переходе от клинической деятельности к управленческой, при назначении врача на должность топ-менеджера лечебного учреждения [15]. Переживание этого кризиса сопровождается нередко фрустрацией профессиональной Я-концепции; ее начинает «теснить» новая формирующаяся идентичность: «Я как руководитель». Исследования показали: снижается интегральная самооценка «Я в настоящем» и завышается «Я в прошлом»; диагностируется недостаточно сформированный потенциал управленческих компетенций; активизируются малопродуктивные копинг-стратегии и др. [15, 16]. В определенной мере преодолению этого барьера способствует включение в программу дополнительного профессионального образования по специальности «Организация здравоохранения и общественное здоровье» курса «Психология управления в организациях здравоохранения». Лекции и практикумы, предлагаемые слушателям, акцентированы на задаче формирования психологических компетенций руководителя, соответствующих трудовым функциям специалиста в области организации здравоохранения и общественного здоровья, зафиксированным в профессиональном стандарте [17]. В самоотчетах и эссе курсантов, написание которых

предусмотрено в итоге обучения на кафедре общественного здоровья и здравоохранения факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов Кубанского государственного медицинского университета, можно отметить позитивный сдвиг от состояния фрустрированности к осознанию точек интеграции двух профессиональных идентичностей: «Я как врач» — «Я как руководитель».

## ВЫВОДЫ

Профессиональная идентичность образует стержень самосознания личности, но этот стержень не монолитен. Он подвержен разного рода интервенциям, идущим из оторефлексированных личностью актуальных изменений, запросов, вызовов, происходящих как в социально-профессиональном пространстве ее бытия, так и во внутреннем мире врача как субъекта медицинского труда. Понимание содержательной сути барьеров, встающих перед специалистом на разных этапах жизненного и профессионального пути, является условием их успешного преодоления и поступательного движения по ступеням профессиональной карьеры.

Актуальность поднятой на симпозиуме проблемы обуславливает развитие исследований в этой области для поиска ответов на сформулированные вопросы: каким образом, под воздействием чего и насколько интенсивно формируются медицинские идентичности в современном обществе?

## Литература

1. Фрейд З. Психология масс и анализ человеческого «Я». СПб.: Азбука-Аттикус, 2013; 192 с.
2. Лакан Ж. Изнанка психоанализа. М.: Логос, 2008; 272 с.
3. Хьелл Л., Зиглер Д. Теории личности. СПб.: Питер, 2017; 608 с.
4. Молодыхенко Е. Р. Идентичность и дискурс: от социальной теории к практике лингвистического анализа. Научно-технические ведомости Санкт-петербургского государственного политехнического университета. Гуманитарные и общественные науки. 2017; 8 (3); 122–30.
5. Ryabikina Z, Bogomolova K. Personal identity in the conditions existence virtualization. Book of Abstracts: XVI European Congress of Psychology (ECP 2019) (2–5 July, 2019. Lomonosov Moscow State University, Moscow). Moscow: Moscow University Press, 2019; 20.
6. Berberyan A, Tuchina O. Historical experience and national identity in the era of globalization. Book of Abstracts: XVI European Congress of Psychology (ECP 2019) (2–5 July, 2019. Lomonosov Moscow State University, Moscow). Moscow: Moscow University Press, 2019; 22–3.
7. Ryabikina Z, Makarevskaya Y. Unconfirmed identity as an indicator of social failure of personality. Book of Abstracts: XVI European Congress of Psychology (ECP 2019) (2–5 July, 2019. Lomonosov Moscow State University, Moscow). Moscow: Moscow University Press, 2019; 24.
8. Ozhigova L. Crisis of a person's gender-based identity. Personal identity in the conditions existence virtualization. Book of Abstracts: XVI European Congress of Psychology (ECP 2019) (2–5 July, 2019. Lomonosov Moscow State University, Moscow). Moscow: Moscow University Press, 2019; 26.
9. Binyamin G. Growing from Dilemmas: Developing a Professional Identity Through Collaborating Reflections on Relational Dilemmas. Advances in Health Sciences Education. 2018; 23 (1): 43–60.
10. Broadhead RS. The Private Lives and Professional Identity of Medical Students. London: Routledge, 2017; 140 p.
11. Галкин К. А. Поколенческая преемственность студентов врачей в контексте формирования профессиональной идентичности. Социально-экономические исследования, гуманитарные науки и юриспруденция: теория и практика. 2017; (13): 62–6.
12. Ермолаева Е. П. Взаимосвязь идентичности, востребованности и маргинализма профессионала в современном обществе. В книге: Обознов А. А., Журавлев А. Л., редакторы. Актуальные проблемы психологии труда, инженерной психологии и эргономики. Выпуск 7. М.: Институт психологии РАН, 2015; с. 11–22.
13. Сыманюк Э. Э., Девятковская И. В. Непрерывное образование как ресурс преодоления психологических барьеров в процессе профессионального развития. Образование и наука. 2015; (1): 80–92.
14. Ясько Б. А. Организационная психология здравоохранения: персонал, лидерство, культура. Монография. Краснодар: Кубан. гос. ун-т, 2013; 260 с.
15. Тхагалижкова Л. В. Отношение ко времени и психология жизненных и экзистенциальных кризисов. Материалы XXII Международного симпозиума «Психологические проблемы смысла жизни и акме». Москва: ПИ РАО, 2017.
16. Yasko BA, Kasarin BV, Rimmavi MH. Basics of administrative competence of a doctor-head as a subject in a post graduate education system. International Journal of Experimental Education. 2011; (1): 15–17.
17. Об утверждении профессионального стандарта «Специалист в области организации здравоохранения и общественного здоровья». Приказ Министерства труда и социальной защиты РФ от 7 ноября 2017 г. № 768н. Доступно по ссылке: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71722794/>.

## References

1. Freud Z. Psihologija mass i analiz chelovecheskogo «Ja». SPb.: Azbuka-Attikus, 2013; 192 s. Russian.
2. Lacan J. Iznanka psihoanaliza. M.: Logos, 2008. 272 s. Russian.
3. Hjelle L, Ziegler D. Teorii lichnosti. SPb.: Piter, 2017; 608 s.
4. Molodichenko ER Identity and discourse: from social theory to practice linguistic analysis. Scientific and technical statements of St. Petersburg state Polytechnic University. Humanities and social sciences. 2017; 8 (3): 122–30.
5. Ryabikina Z, Bogomolova K. Personal identity in the conditions existence virtualization. Book of Abstracts: XVI European Congress of Psychology (ECP 2019) (2–5 July, 2019. Lomonosov Moscow State University, Moscow). Moscow: Moscow University Press, 2019; 20.
6. Berberyan A, Tuchina O. Historical experience and national identity in the era of globalization. Book of Abstracts: XVI European Congress of Psychology (ECP 2019) (2–5 July, 2019. Lomonosov Moscow State University, Moscow). Moscow: Moscow University Press, 2019; 22–3.
7. Ryabikina Z, Makarevskaya Y. Unconfirmed identity as an indicator of social failure of personality. Book of Abstracts: XVI European Congress of Psychology (ECP 2019) (2–5 July, 2019. Lomonosov Moscow State University, Moscow). Moscow: Moscow University Press, 2019; 24.
8. Ozhigova L. Crisis of a person's gender-based identity. Personal identity in the conditions existence virtualization. Book of Abstracts: XVI European Congress of Psychology (ECP 2019) (2–5 July, 2019. Lomonosov Moscow State University, Moscow). Moscow: Moscow University Press, 2019; 26.
9. Binyamin G. Growing from Dilemmas: Developing a Professional Identity Through Collaborating Reflections on Relational Dilemmas. *Advances in Health Sciences Education*. 2018; 23 (1): 43–60.
10. Broadhead RS The Private Lives and Professional Identity of Medical Students. London: Routledge, 2017; 140 p.
11. Galkin KA Generational succession of medical students in the context of formation the professional identity. *Socio-economic researches, humanities and law: theory and practice*. 2017; (13): 62–6.
12. Ermolaeva EP. The relationship of identity, relevance and marginalization of the professional in modern society. In: A. A. Oboznov, A. L. Zhuravlev, editors. *Actual problems of labor psychology, engineering psychology and ergonomics*. Issue 7. M.: Institute of psychology RAS, 2015; 11– 22.
13. Cimanuk EE, Devyatovskaya IV. Continuous education as a resource of overcoming of psychological barriers in the process of professional development. *Education and science*. 2015; (1): 80–92.
14. Yasko BA Organizational psychology of health care: personnel, leadership, culture. Monograph. Krasnodar: Kuban. State. Un-t, 2013; 260 p.
15. Tkhaegoleva LV. Treatment of time and psychology of life and existential crises. Book of Abstracts: XXII International Symposium "Psychological problems of meaning of life and Acme". Moscow: PI RAO, 2017; 294–5.
16. Yasko BA, Kasarin BV, Rimmavi MH. Basics of administrative competence of a doctor-head as a subject in a post graduate education system. *International Journal of Experimental Education*. 2011; (1): 15–7.
17. Ob utverzhdenii professional'nogo standarta «Specialist v oblasti organizatsii zdravoohraneniya i obshchestvennogo zdorov'ja». Prikaz Ministerstva truda i social'noj zashhity RF ot 7 noyabrya 2017 g. # 768n. Dostupno po ssylke: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71722794/>. Russian.