

с е т е в о й н а у ч н ы й ж у р н а л ISSN 2313-8955

НАУЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

R E S E A R C H R E S U L T

Том 4 | № 4
Volume 4 | 2018

НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ
БИОМЕДИЦИНСКИХ
ИССЛЕДОВАНИЙ

RESEARCH RESULTS
IN BIOMEDICINE

Сайт журнала:
rrmedicine.ru

сетевой научный рецензируемый журнал
online scholarly peer-reviewed journal





Том 4, №4. 2018

СЕТЕВОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
Издается с 2014 г.
ISSN 2313-8955



Volume 4, № 4. 2018

ONLINE SCHOLARLY PEER-REVIEWED JOURNAL
First published online: 2014
ISSN 2313-8955

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР: **Чурносев М.И.**, доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ
ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА: **Юров И.Ю.**, доктор биологических наук, профессор Российской академии наук, ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, РФ
РЕДАКТОР АНГЛИЙСКИХ ТЕКСТОВ: **Ляшенко И.В.**, кандидат филологических наук, доцент, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ
ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ: **Малютин А.Ю.**, кандидат фармацевтических наук, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ
ТЕХНИЧЕСКИЙ СЕКРЕТАРЬ: **Рудых Н.А.**, кандидат биологических наук, доцент, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

Александровский Ю.А., член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского», Москва, РФ
Ван Т.С.К., PhD, профессор, госпиталь принца Уэльса Китайского университета Гонконга, Гонконг, Китай
Ворсанова С.Г., доктор биологических наук, профессор, «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», Москва, РФ
Галенко-Ярошевский П.А., член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», Краснодар, РФ
Жерякова Н.И., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ
Иллиг Т., доктор естественных наук, профессор, Ганноверский объединенный биобанк, институт генетики человека, Ганновер, Германия
Кубешова Х.М., MD, PhD, профессор, Масариков университет, Брно, Чехия
Малерба Дж., PhD, профессор медицинской генетики, Университет Вероны, Верона, Италия
Милкович Б., PhD, профессор, Белградский университет, Белград, Сербия
Нкенке Э., MD, DMD, MA, доктор медицинских наук, профессор, Венский медицинский университет, Вена, Австрия
Покровский М.В., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ
Полоники А.В., доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Курск, РФ
Процеев К.И., доктор медицинских наук, профессор, АНО «Научно-исследовательский медицинский центр «ГЕРОНТОЛОГИЯ», Москва, РФ
Радзinsky В.Е., член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, РФ
Руженков В.А., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ
Сорокин А.В., кандидат медицинских наук, Национальный институт сердца, легких и крови, Бетесда, США
Степанов В.А., член-корреспондент Российской академии наук, доктор биологических наук, профессор, НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, Томск, РФ
Стояновска Л., MSc, PhD, профессор, Университет Виктории, Мельбурн, Австралия
Фрейдлин М.Б., доктор биологических наук, Королевский колледж Лондона, Лондон, Великобритания
Хамошина М.Б., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, РФ
Хуснутдинова Э.К., член-корреспондент Российской академии образования, доктор биологических наук, профессор, Институт биохимии и генетики Уфимского Федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, РФ
Цыганков Б.Д., член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова», Москва, РФ
Эберт А.Д., PhD, доктор медицинских наук, профессор, Клиника женского здоровья, гинекологии и акушерства, Берлин, Германия

EDITORIAL TEAM:

EDITOR-IN-CHIEF: **M.I. Churnosov**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia
DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF: **I.Yu. Iourov**, Doctor of Biological Sciences, Professor of the Russian Academy of Sciences, Mental Health Research Center, Moscow, Russia
ENGLISH TEXT EDITOR: **I.V. Lyashenko**, Candidate of Philological Sciences, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia
EXECUTIVE SECRETARY: **A.Yu. Malyutina**, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia
TECHNICAL SECRETARY: **N.A. Rudykh**, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

EDITORIAL BOARD:

Yu.A. Aleksandrovsky, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Serbsky State Scientific Center for Social and Forensic Psychiatry, Moscow, Russia
T.S.K. Wan, PhD, Professor, Prince of Wales Hospital of the Chinese University of Hong Kong, Hong Kong, China
S.G. Vorsanova, Doctor of Biological Sciences, Professor, Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics of Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia
P.A. Galenko-Yaroshevsky, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia
N.I. Zhernakova, Doctor of Medical Sciences, Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia
T. Illig, Doctor Rerum Naturalium, Professor, Hanover Unified Biobank, Institute of Human Genetics, Hannover, Germany
H.M. Kubeshova, MD, PhD, Professor, Masaryk University, Brno, Czech Republic
G. Malerba, PhD, Professor of Medical Genetics, University of Verona, Verona, Italy
B. Miljkovic, PhD, Professor, University of Belgrade, Belgrade, Serbia
E. Nkenke, MD, DMD, MA, Doctor Rerum Medicarum, Full Professor, Medical University of Vienna, Vienna, Austria
M.V. Pokrovsky, Doctor of Medical Sciences, Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia
A.V. Polonikov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Kursk State Medical University, Kursk, Russia
K.I. Proshchayev, Doctor of Medical Sciences, Professor, Research Medical Center "Gerontology", Moscow, Russia
V.E. Radzinsky, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia
V.A. Ruzhenkov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia
A.V. Sorokin, PhD, National Heart, Lung, and Blood Institute, Bethesda, USA
V.A. Stepanov, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Biological Sciences, Professor, Research Institute of Medical Genetics of Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia
L. Stojanovska, MSc, PhD, Emeritus Professor, Victoria University, Melbourne, Australia
M.B. Freydlin, Doctor of Biological Sciences, King's College London, London, UK
M.B. Khamoshina, Doctor of Medical Sciences, Professor, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia
E.K. Khusnutdinova, Corresponding Member of the Russian Academy of Education, Doctor of Biological Sciences, Professor, Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia
B.D. Tsygankov, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia
A.D. Ebert, PhD, Doctor Medicinae Habilitatus, Professor, Practice for Women's Health, Gynecology & Obstetrics, Berlin, Germany

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

ГЕНЕТИКА

GENETICS

К.Б. Богатырева, М.М. Азова, А.В. Агаджанян, Л.В. Цховребова, А.А. Аит, З.Х. Шугушев Ассоциация полиморфизма T1565C гена ITGB3 с развитием атеросклероза и ин-стент рестеноза коронарных артерий у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца	3	Kalima B. Bogatyreva, Madina M. Azova, Anna V. Aghajanyan, Leila V. Tskhovrebova, Aissa A. Ait, Zaurbek Kh. Shugushev Association of the ITGB3 gene T1565C polymorphism with the development of atherosclerosis and in-stent restenosis in patients with stable coronary artery disease	3
А.С. Левченко, О.Ю. Мезенцева, О.Ю. Бушуева, А.А. Воробьева, М.Б. Фрейдин, А.В. Полоников Изучение полиморфизмов генов цитокинов <i>IL5</i> , <i>IL1</i> и <i>TNFα</i> в формировании предрасположенности к хроническому полипозному риносинуситу	10	Arina S. Levchenko, Oksana Yu. Mezentseva, Olga Yu. Bushueva, Anastasia A. Vorobyova, Maxim B. Freidin, Alexei V. Polonikov Study of <i>IL5</i> , <i>IL1</i> and <i>TNFα</i> genes polymorphisms in the predisposition to chronic polypoid rhinosinusitis	10
И.Н. Сорокина, Н.А. Рудых, И.Н. Безменова, И.С. Полякова Популяционно-генетические характеристики и генетико-эпидемиологическое исследование ассоциаций генов-кандидатов с мультифакториальными заболеваниями	20	Inna N. Sorokina, Natalia A. Rudykh, Irina N. Bezmenova, Irina S. Polyakova Population genetic characteristics and genetic epidemiological research of candidate genes associations with multifactorial diseases	20

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

PHARMACOLOGY, CLINICAL PHARMACOLOGY

Alexandra V. Baskakova Perspective materials for drug delivery in the ophthalmic dosage form: a short review of polymers for electrospinning	31	Alexandra V. Baskakova Perspective materials for drug delivery in the ophthalmic dosage form: a short review of polymers for electrospinning	31
О.Н. Бушмина, А.Л. Локтионов, С.А. Долгарева, А.И. Конопля Фармакологическая коррекция метаболических нарушений при экспериментальном остром панкреатите на фоне хронической алкогольной интоксикации	35	Olga N. Bushmina, Alexey L. Loktionov, Svetlana A. Dolgareva, Alexandr I. Konoplya Pharmacological correction of metabolic disturbances in experimental acute pancreatitis on the background of chronic alcohol intoxication	35
А.А. Чахирова, Е.В. Ковтун, М.А. Огай, Э.Ф. Степанова, Н.Л. Нам Разработка состава и анализ суппозиторий антигеморроидального действия	52	Anna A. Chahirova, Elena V. Kovtun, Marina A. Ogay, Eleonora F. Stepanova, Natalia L. Nam Development of the composition and analysis of suppositories of antihemorrhoidal action	52

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

CLINICAL MEDICINE

И.И. Болотов Влияние пептида KED на экспрессию коннексина и сиртуина при атеросклерозе и рестенозе у людей пожилого возраста	60	Ivan I. Bolotov Effects of KED peptide on connexin and sirutin expression in atherosclerosis and restinosis in elderly people	60
Е.В. Енькова, О.В. Хоперская Ценность определения концентраций кальцидиола и сосудисто-эндотелиального фактора роста для прогнозирования неразвивающейся беременности	69	Elena V. Enkova, Olga V. Khoperskaya The value of determining concentrations of calcidiol and vascular endothelial growth factor to predict non-developing pregnancy	69
М.В. Оробцова, С.Г. Горелик, И.Х. Муталиев, Г.А. Ширикова, Н.И. Хлебников Влияние операционного стресса на прогрессирование когнитивной дисфункции у пациентов среднего и пожилого возраста с ИБС и клапанной дисфункцией	79	Maria V. Orobtsova, Svetlana G. Gorelik, Isrofil H. Mutaiev, Galina A. Shirikova, Nikolai I. Khlebnikov The influence of operational stress on the progression of cognitive dysfunction in middle-aged and senior patients with ischemic heart disease and valvular dysfunction	79
В.И. Очколяс Непсихотические психические расстройства у больных доброкачественной гиперплазией предстательной железы (клиника и терапия)	85	Viktor I. Ochkoelyas Nonpsychotic mental disorders in patients with benign hyperplasia of the prostate gland (clinic and therapy)	85

ГЕНЕТИКА GENETICS



УДК 575.174.015.3: 616.13-004.6

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-1

К.Б. Богатырева,
М.М. Азова,
А.В. Агаджанян,
Л.В. Цховребова,
А.А. Аит,
З.Х. Шугушев

Ассоциация полиморфизма T1565C гена ITGB3 с развитием атеросклероза и ин-стент рестеноза коронарных артерий у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов»,
ул. Миклухо-Маклая, д. 6, г. Москва, 117198, Российская Федерация
Автор для переписки: К.Б. Богатырева (Kalima.bogatyreva@mail.ru)

Информация для цитирования: Ассоциация полиморфизма T1565C гена ITGB3 с развитием атеросклероза и ин-стент рестеноза коронарных артерий у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца / К.Б. Богатырева [и др.] // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 4. С. 3-9. [Bogatyreva KB, Azova MM, Aghajanyan AV, et al. Association of the ITGB3 gene T1565C polymorphism with the development of atherosclerosis and in-stent restenosis in patients with stable coronary artery disease. Research Results in Biomedicine. 2018;4(4):3-9 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-1

Аннотация

Актуальность: На сегодняшний день чрескожные коронарные вмешательства являются одним из самых эффективных методов лечения ишемической болезни сердца (ИБС). Несмотря на непрерывное совершенствование методик и дизайнов стентов, рестеноз внутри стента (РВС) остается одним из главных ограничивающих факторов данной процедуры. Исследования в области молекулярной кардиологии показали значительный вклад дисфункции эндотелия в развитие РВС. Согласно литературным данным, интегрин бета 3 вовлечен в межклеточные взаимодействия, взаимодействие с внеклеточным матриксом, влияет на активность гладкомышечных клеток, что в конечном итоге, может приводить к гиперплазии неоинтимы. **Цель исследования:** Изучить возможность ассоциации полиморфизма T1565C гена ITGB3 с развитием рестеноза после стентирования коронарных артерий. **Материалы и методы:** В исследование были включены пациенты, страдающие ИБС, которым ранее проводилось интракоронарное стентирование стентами с лекарственным покрытием (n=110), и пациенты с интактными сосудами по данным ангиографии (n=62). Повторное сужение сосуда в месте имплантации стента более 50% определялось как ангиографический рестеноз. Критерии включения в исследование: возраст > 45 лет, русские, атеросклероз по данным ангиографии одного или нескольких сосудистых бассейнов, согласие пациентов на исследование. Для генотипирования по полиморфизму T1565C гена ITGB3 применялась методика

ПЦР в режиме реального времени. **Результаты:** Частоты аллеля *C* и гетерозиготного генотипа *ТС* достоверно выше в подгруппах пациентов с более ранним развитием рестеноза и диффузным поражением коронарного русла с наличием окклюзий. **Заключение:** Минорный аллель *C* по полиморфизму T1565C гена *ITGB3* можно рассматривать в качестве предиктора диффузного поражения коронарных артерий с развитием окклюзий и РВС коронарных артерий до одного года после процедуры стентирования.

Ключевые слова: атеросклероз; рестеноз; генные полиморфизмы; интегрин бета 3

Kalima B. Bogatyreva,
Madina M. Azova,
Anna V. Aghajanyan,
Leila V. Tskhovrebova,
Aissa A. Ait,
Zaurbek Kh. Shugushev

Association of the ITGB3 gene T1565C polymorphism with the development of atherosclerosis and in-stent restenosis in patients with stable coronary artery disease

Peoples' Friendship University of Russia,
8 Miklukho-Maklaya St., Moscow, 117198, Russia
Corresponding author: Kalima B. Bogatyreva (Kalima.bogatyreva@mail.ru)

Abstract

Background: Today, percutaneous coronary intervention (PCI) is the most effective treatment of coronary artery disease (CAD). Despite all technical advances in stent designs and techniques, in-stent restenosis (ISR) remains one of the main limiting factors of this procedure. Studies in the field of molecular cardiology have shown a significant contribution of endothelial dysfunction in the development of ISR. According to the literature, integrin beta 3 is involved in intercellular interactions, interaction with extracellular matrix; it influences the activity of smooth muscle cells, which can lead to neointimal hyperplasia. **The aim of the study:** To study the possibility of association of T1565C polymorphism of the *ITGB3* gene with the development of restenosis after stenting of the coronary arteries. **Materials and methods:** Patients with CAD after PCI with drug-coated stents (n = 110) and patients with intact vessels according to angiography (n = 62) were included in the study. The repeated stenosis of the artery at the stent implantation site of more than 50% was defined as angiographic restenosis. The criteria for inclusion in the study were: age > 45 years, ethnic Russians, atherosclerosis according to the angiography of one or more arteries, patient informed consent. The genotyping for the *ITGB3* T1565C polymorphism was performed using the real-time PCR. **Results:** The C allele and heterozygous genotype frequencies are significantly higher in groups of patients with earlier development of restenosis and diffuse CAD with occlusion. **Conclusion:** The minor C allele of the *ITGB3* T1565C polymorphism may be considered as a predictor of diffuse CAD with the development of occlusions and ISR of the coronary arteries within the first year after stent implantation.

Keywords: atherosclerosis; restenosis; gene polymorphisms; integrin beta 3

Введение. Ишемическая болезнь сердца является одним из наиболее распространенных заболеваний сердечно-сосудистой системы (ССЗ), составляя более 50% смерт-

ности среди данной группы заболеваний [1, 2]. ВОЗ и Всемирная Федерация Сердца поставили глобальную задачу снижения преждевременной смертности от ССЗ на 25%

к 2025 году. На сегодняшний день чрескожные коронарные вмешательства являются самым эффективным и безопасным лечением ИБС [3]. Баллонная ангиопластика со стентированием коронарных артерий стала самой часто выполняемой малоинвазивной операцией в мире [4]. Ежегодно в США выполняется более 1 миллиона стентирований коронарных артерий [5]. Несмотря на огромный прогресс в медицинских технологиях, рестеноз внутри стента до сих пор остается ограничивающим фактором развития эндоваскулярной хирургии [6]. Появление стентов с лекарственным покрытием должно было стать технологическим прорывом в борьбе с рестенозом внутри стента, и, действительно, они значительно снизили частоту развития РВС, но не решили проблему окончательно [7]. Резкое увеличение общего количества имплантаций, а также стентирование более сложных поражений у пациентов с тяжелой сопутствующей патологией, включая сахарный диабет, привело к увеличению общего количества данного осложнения, в связи с чем проблема рестеноза после интракоронарного стентирования стала требовать дальнейших исследований. РВС – многофакторный процесс, идущий параллельно с восстановлением поврежденной стенки сосуда после чрескожного коронарного вмешательства [8]. Имплантация стента запускает комплекс эндотелиальных и воспалительных реакций, приводящих к формированию неоинтимы и уменьшающих остаточный просвет целевого сосуда [9]. Наличие дисфункции эндотелия, по мнению многих авторов, является одним из главных факторов, определяющих частоту и интенсивность РВС [10, 11, 12, 13]. Интегрины относятся к адгезивным молекулам эндотелия сосудистой стенки, участвуя с одной стороны, в процессах формирования, функционирования и регенерации сосудистого русла, с другой – в развитии самых ранних этапов дисфункции эндотелия [14, 15]. Данные молекулы, являясь трансмембранными гликопротеинами, также выполняют рецепторную функцию и обеспечивают взаимодействие с компонентами внеклеточного матрикса, а также межклеточную сигнализацию [16, 17]. Полиморфизмы гена *ITGB3* (*GPIIIa*), кодирующего интегрин бета

3, являющийся компонентом тромбоцитарного рецептора фибриногена, традиционно рассматриваются как предикторы ССЗ ввиду нарушения свертывающей системы [18]. Однако в ряде исследований показано, что *ITGB3* также регулирует рост и миграцию гладкомышечных клеток – главных компонентов неоинтимы [19]. Показано, что полиморфизм T1565C гена *ITGB3* ассоциирован с гиперэкспрессией VEGFR-2 на эндотелиальных клетках и, как следствие, нарушением эндотелиальной функции. Клинически экспрессия данного полиморфизма является предиктором высокого риска развития инфаркта миокарда, особенно у мужчин молодого возраста, при наличии факторов риска развития атеросклероза, таких как гипертензия, дислипидемия и сахарный диабет [20].

Цель исследования. Изучить возможность ассоциации полиморфизма T1565C гена *ITGB3* с развитием рестеноза после стентирования коронарных артерий.

Материал и методы. В исследование было включено 172 пациента, которые были распределены в две группы. Первая группа состояла из пациентов со стабильной формой ИБС, которым было выполнено стентирование коронарных артерий (n=110); в нее по данным контрольной коронарографии были включены как пациенты с наличием рестеноза внутри стента (n=40), так и пациенты без РВС (n=46). Вторая группа (группа сравнения) состояла из пациентов с интактными коронарными артериями (n=62). Критерии включения в исследование: возраст > 45 лет, русские, атеросклероз по данным ангиографии одного или нескольких сосудистых бассейнов, согласие пациентов на исследование. Критерии исключения: пациенты с нестабильной стенокардией, тяжелой сердечной недостаточностью, сахарным диабетом 1 типа, онкологическими заболеваниями, почечной и печеночной недостаточностью. На контрольной коронарографии повторное сужение стентированного сегмента сосуда более 50% определялось как ангиографический рестеноз. При имплантации стентов в двух и более сегментах, в анализ включался сегмент с наиболее агрессивной формой рестеноза. Выделение геномной ДНК из периферической крови и генотипирование паци-

ентов по полиморфизму T1565C гена *ITGB3* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени выполнялось с применением наборов реагентов компании «Синтол». Статистическую обработку данных проводили с использованием программы «R language, для сравнения частот генотипов

и аллелей использовали критерий Хи-квадрат. Результаты считали статистически значимыми при значениях $p < 0,05$.

Результаты исследования. Данные, полученные при генотипировании пациентов, представлены в таблице 1.

Таблица 1

Частоты аллелей и генотипов по полиморфизму T1565C гена *ITGB3* в исследованных группах

Table 1

Allele and genotype frequencies of the *ITGB3* gene T1565C polymorphism in the studied groups

Группа	Частоты генотипов, %			Частоты аллелей, %	
	CC	CT	TT	C	T
Больные с ИБС (n=110)	2	24	74	14	86
Рестеноз + (n=40)	2,5	27,5	70	16,25	83,75
Рестеноз - (n=46)	2	26	72	15	85
Группа сравнения (n=62)	0	31	69	15,5	84,5

При статистической обработке данных достоверных отличий по частотам аллелей и генотипов между исследованными группами обнаружено не было. Это позволяет полагать, что данный полиморфизм не ассоциирован с развитием рестеноза коронарных артерий и стабильной ИБС. Однако при более детальном исследовании группы пациентов, прошедших процедуру стентирования, были получены интересные результаты (Таблица 2). Так, оказалось, что наличие

минорного аллеля *C* в генотипе ассоциировано с более ранним развитием рестеноза, с диффузным поражением коронарного русла и наличием окклюзий ($p < 0,05$). Если последнее объяснимо тем фактом, что интегрин бета 3, будучи компонентом тромбоцитарного рецептора фибриногена, способствует агрегации тромбоцитов, то механизмы, лежащие в основе его ассоциации с более ранним развитием рестеноза, требуют дальнейшего изучения.

Таблица 2

Частоты аллелей и генотипов по полиморфизму T1565C гена *ITGB3* в подгруппах пациентов, которым было выполнено стентирование коронарных артерий

Table 2

Allele and genotype frequencies of the *ITGB3* gene T1565C polymorphism in groups of patients after PCI

Подгруппа	Частоты генотипов, %			Частоты аллелей, %	
	TT	CT	CC	T	C
Рестеноз до 1 года (n=18)	44	50	6	69	31
Рестеноз после 1 года (n=22)	91	9	0	95,5	4,5
Окклюзия + (n=17)	18	76	6	56	44
Окклюзия - (n=93)	84	15	1	91,5	8,5

Заключение. Минорный аллель *C* по полиморфизму T1565C гена *ITGB3* можно рассматривать в качестве предиктора диффузного поражения коронарных артерий с развитием окклюзий и РВС коронарных ар-

терий до одного года после процедуры стентирования.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. European cardiovascular disease statistics / M. Nichols [et al.]. 2012. N. 2012. DOI:978-2-9537898-1-2.
2. Global Burden of Disease Study 2013 (GBD 2013). Age-Sex Specific All-Cause and Cause-Specific Mortality 1990-2013. Seattle, United States: Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME), 2014.
3. 2011 ACCF/AHA/SCAI Guideline for Percutaneous Coronary Intervention. A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions / G.N. Levine [et al.] // J Am Coll Cardiol. 2011. Vol. 58(24). P. e44-122. DOI: 10.1016/j.jacc.2011.08.007
4. Marco J. Drug Eluting Stents: promises and the precautionary attitude (Grüntzig lecture at the ESC Stockholm, 2005) // EuroIntervention. 2006. Vol. 2(1). P. 15-17.
5. Statistics – 2011 Update A Report From the American Heart Association / V.L. Roger [et al.] // Circulation. 2011. Vol. 123(4). P. e18-e209. DOI:10.1161/CIR.0b013e3182009701
6. Restenosis after PCI. Part 1: pathophysiology and risk factors / J.W. Jukema [et al.] // Nat Rev Cardiol. 2012. N 9. P. 53-62.
7. Indolfi C., Pavia M., Angelillo I.F. Drug-eluting stents versus bare metal stents in percutaneous coronary interventions (a meta-analysis) // Am J Cardiol. 2005. Vol. 95(10). P. 1146-1152. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.01.040>
8. Coronary artery stretch versus deep injury in the development of in-stent neointima / J. Gunn [et al.] // Heart. 2002. N 88. P. 401-405. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/heart.88.4.401>
9. Morphological predictors of restenosis after coronary stenting in humans / R. Virmani [et al.] // Circulation. 2002. N 105. P. 2974-2980. DOI: 10.1161/01.CIR.0000019071.72887.BD
10. Association of coronary microvascular dysfunction with restenosis of left anterior descending coronary artery disease treated by percutaneous intervention / A. De Vita [et al.] // Int J Cardiol. 2016. N 219. P. 322-325. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.06.031>
11. Boyle C.J., Lennon A.B., Prendergast P.J. In silico prediction of the mechanobiological response of arterial tissue: application to angioplasty and Stenting // J. Biomech. Eng. 2011. Vol. 133(8) 81001. DOI:10.1115/1.4004492.
12. Computational simulation methodologies for mechanobiological modelling: a cell-centred approach to neointima development in stents / C.J. Boyle [et al.] // Philos Trans A Math Phys Eng Sci. 2010. Vol. 368(1921). P. 2919-2935. DOI: 10.1098/rsta.2010.0071
13. Munk P.S., Butt N., Larsen A. Endothelial dysfunction predicts clinical restenosis after percutaneous coronary intervention // Scand Cardiovasc J. 2011. Vol. 45(3). P. 139-45. DOI: <https://doi.org/10.3109/14017431.2011.564646>
14. Association of polymorphisms in platelet and hemostasis system genes with acute myocardial infarction / J.W. Knowles [et al.] // Am Heart J. 2007. Vol. 154(6). P. 1052-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2007.05.021>
15. Platelet glycoprotein Iba and integrin $\alpha 2\beta 1$ polymorphisms: gene frequencies and linkage disequilibrium in a population diversity panel / J. Di Paola [et al.] // J Thromb Haemost. 2005. N 3. P. 1511-21. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2005.01273.x>
16. Somanath P.R., Malinin N.L., Byzova T.V. Cooperation between integrin $\alpha v\beta 3$ and VEGFR2 in angiogenesis // Angiogenesis. 2009. Vol. 12(2). P. 177-185. DOI: 10.1007/s10456-009-9141-9
17. Platelet glycoprotein IIIa Leu33Pro gene polymorphism and coronary artery disease: A meta-analysis of cohort studies / M. Verdoia [et al.] // Platelets. 2015. Vol. 26(6). P. 530-535. DOI: <https://doi.org/10.3109/09537104.2014.948839>
18. Yee D.L., Bray P.F. Clinical and functional consequences of platelet membrane glycoprotein polymorphisms // Semin Thromb Hemost. 2004. Vol. 30(5). P. 591-600. DOI: 10.1055/s-b-2004-835679
19. Integrin $\beta 3$ regulates clonality and fate of smooth muscle-derived atherosclerotic plaque cells / A. Misra [et al.] // Nat Commun. 2018. Vol. 9(1). P. 2073. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04447-7>
20. Shoenfeld Y., Harats D., Wick G. Atherosclerosis and Autoimmunity 1st Edition. 2001. V. 2. P. 349.

References

1. Nichols M, Townsend, Luengo-Fernandez R, et al. European cardiovascular disease statistics. 2012;2012. DOI: 978-2-9537898-1-2.
2. Global Burden of Disease Study 2013 (GBD 2013). Age-Sex Specific All-Cause and Cause-Specific Mortality 1990-2013. Seattle, United States: Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME), 2014.

3. Levine GN, Bates ER, Blankenship JC, et al. 2011 ACCF/AHA/SCAI Guideline for Percutaneous Coronary Intervention. A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions. *J Am Coll Cardiol.* 2011 Dec;58(24):e44-122. DOI: 10.1016/j.jacc.2011.08.007
4. Marco J. Drug Eluting Stents: promises and the precautionary attitude (Grüentzig lecture at the ESC Stockholm, 2005). *EuroIntervention.* 2006 May;2(1):15-17.
5. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, et al. Statistics – 2011 Update A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2011;123(4):e18-e209. DOI:10.1161/CIR.0b013e3182009701
6. Jukema JW, Verschuren JJ, Ahmed TA, et al. Restenosis after PCI. Part 1: pathophysiology and risk factors. *Nat Rev Cardiol.* 2012;9:53-62.
7. Indolfi C, Pavia M, Angelillo IF. Drug-eluting stents versus bare metal stents in percutaneous coronary interventions (a meta-analysis). *Am J Cardiol.* 2005 May;95(10):1146-1152. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.01.040>
8. Gunn J, Arnold N, Chan KH, et al. Coronary artery stretch versus deep injury in the development of in-stent neointima. *Heart.* 2002;88:401-405. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/heart.88.4.401>
9. Virmani R, Farb A, Weber DK, et al. Morphological predictors of restenosis after coronary stenting in humans. *Circulation.* 2002;105:2974-2980. DOI: 10.1161/01.CIR.0000019071.72887.BD
10. De Vita A, Milo M, Sestito A, et al. Association of coronary microvascular dysfunction with restenosis of left anterior descending coronary artery disease treated by percutaneous intervention. *Int J Cardiol.* 2016;219:322-325. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.06.031>
11. Boyle CJ, Lennon AB, Prendergast PJ. In silico prediction of the mechanobiological response of arterial tissue: application to angioplasty and Stenting. *J. Biomech. Eng.* 2011;133(8):81001. DOI:10.1115/1.4004492.
12. Boyle CJ, Lennon AB, Early M, et al. Computational simulation methodologies for mechanobiological modelling: a cell-centred approach to neointima development in stents. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci.* 2010;368(1921):2919-2935. DOI: 10.1098/rsta.2010.0071
13. Munk PS, Butt N, Larsen A. Endothelial dysfunction predicts clinical restenosis after percutaneous coronary intervention. *Scand Cardiovasc J.* 2011;45(3):139-45. DOI: <https://doi.org/10.3109/14017431.2011.564646>
14. Knowles JW, Wang H, Itakura H, et al. Association of polymorphisms in platelet and hemostasis system genes with acute myocardial infarction. *Am Heart J.* 2007;154(6):1052-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2007.05.021>
15. Di Paola J, Jugessur A, Goldman T, et al. Platelet glycoprotein Iba and integrin $\alpha 2\beta 1$ polymorphisms: gene frequencies and linkage disequilibrium in a population diversity panel. *J Thromb Haemost.* 2005;3:1511-21. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2005.01273.x>
16. Somanath PR, Malinin NL, Byzova TV. Cooperation between integrin $\alpha v\beta 3$ and VEGFR2 in angiogenesis // *Angiogenesis.* 2009;12(2):177-185. DOI: 10.1007/s10456-009-9141-9
17. Verdoia M, Casseti E, Schaffer A, et al. Platelet glycoprotein IIIa Leu33Pro gene polymorphism and coronary artery disease: A meta-analysis of cohort studies. *Platelets.* 2015;26(6):530-535. DOI: <https://doi.org/10.3109/09537104.2014.948839>
18. Yee DL, Bray PF. Clinical and functional consequences of platelet membrane glycoprotein polymorphisms. *Semin Thromb Hemost.* 2004;30(5):591-600. DOI: 10.1055/s-в 2004-835679
19. Misra A, Feng Z, Chandran RR, et al. Integrin beta3 regulates clonality and fate of smooth muscle-derived atherosclerotic plaque cells. *Nat Commun.* 2018;9(1):2073. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04447-7>
20. Shoenfeld Y, Harats D, Wick G. *Atherosclerosis and Autoimmunity 1st Edition.* 2001;2:349.
- Информация об авторах**
Калима Бадиноквна Богатырева, аспирант кафедры биологии и общей генетики, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», E-mail: Kalima.bogatyreva@mail.ru.
Мадина Мухамедовна Азова, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой биологии и общей генетики, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».
Анна Владимировна Агаджанян, кандидат биологических наук, ассистент кафедры биологии и общей генетики, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».
Лейла Вахтанговна Цховребова, кандидат биологических наук, ассистент кафедры биологии и общей генетики, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».

Аисса Амира Аит, кандидат биологических наук, ассистент кафедры биологии и общей генетики, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».

Заурбек Хасанович Шугушев, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой сердечно-сосудистой хирургии, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».

Information about the authors

Kalima B. Bogatyreva, Post-graduate Student, Department of Biology and General Genetics, Peoples' Friendship University of Russia, E-mail: Kalima.bogatyreva@mail.ru.

Madina M. Azova, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Biology and General Genetics, Peoples' Friendship University of Russia.

Anna V. Aghajanyan, Candidate of Biological Sciences, Assistant Professor, Department of Biology and General Genetics, Peoples' Friendship University of Russia.

Leila V. Tskhovrebova, Candidate of Biological Sciences, Assistant Professor, Department of Biology and General Genetics, Peoples' Friendship University of Russia.

Aissa A. Ait, Candidate of Biological Sciences, Assistant Professor, Department of Biology and General Genetics, Peoples' Friendship University of Russia.

Zaurbek Kh. Shugushev, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Cardiovascular Surgery, Peoples' Friendship University of Russia.

Статья поступила в редакцию 19 июня 2018 г.
Receipt date 2018 June 19.

Статья принята к публикации 5 сентября 2018 г.
Accepted for publication 2018 September 5.



УДК 575.174.015.3:[616.211:616.216]-002

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-2

А.С. Левченко¹,
О.Ю. Мезенцева¹,
О.Ю. Бушуева¹,
А.А. Воробьева²,
М.Б. Фрейдин³,
А.В. Полоников¹

Изучение полиморфизмов генов цитокинов *IL5*, *IL1* и *TNFα* в формировании предрасположенности к хроническому полипозному риносинуситу

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет», ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305004, Российская Федерация

²Акционерное общество «Семейный доктор», 123154, Россия, г. Москва, ул. Генерала Карбышева, 13/1

³Отдел близнецовых исследований и генетической эпидемиологии, Королевский колледж Лондона, Westminster Bridge Road, SE1 7EH, Лондон, Великобритания

Автор для переписки: А.С. Левченко (arina.levchenko@bk.ru)

Информация для цитирования: Изучение полиморфизмов генов цитокинов *IL5*, *IL1* и *TNFα* в формировании предрасположенности к хроническому полипозному риносинуситу / А.С. Левченко [и др.] // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 4. С. 10-19. [Levchenko AS, Mezentseva OYu, Bushueva OYu, et al. Study of *IL5*, *IL1* and *TNFα* genes polymorphisms in the predisposition to chronic polypoid rhinosinusitis. Research Results in Biomedicine. 2018;4(4):10-19 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-2

Аннотация

Актуальность: Хронический риносинусит (ХРС) – это распространенное заболевание носа и околоносовых пазух с затяжным, рецидивирующим течением, лечение которого часто малоэффективно. Известно две формы хронического риносинусита: хронический бактериальный риносинусит и хронический полипозный риносинусит (ХПРС). ХПРС – многофакторное заболевание, которое часто ассоциируется с астмой и аллергическим ринитом, однако механизмы возникновения этих патологий наряду с полипозом носа не ясны до сих пор. Поэтому весьма актуально на сегодняшний день дополнительные исследования для понимания патофизиологических особенностей ХПРС. **Цель исследования:** Изучить связь полиморфных вариантов генов цитокинов *TNFα*, *IL1*, и *IL5* с риском развития хронического полипозного риносинусита. **Материалы и методы:** Обследовано 100 больных хроническим полипозным риносинуситом, находившихся на лечении в ЛОР-отделении БМУ «Курская областная клиническая больница» и ЛОР-отделении ОБУЗ «Курская городская больница №1 им. Н.С. Короткова» с 2010 по 2012 гг. и 100 здоровых индивидов. У всех пациентов проводился забор венозной крови из кубитальной вены в пробирки объемом 5 мл с 0,5 мл 0,5 М ЭДТА (pH=7,8), после чего осуществляли выделение геномной ДНК стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфных вариантов генов проводилось методами

полимеразно-цепной реакции (ПЦР). Обработка продуктов ПЦР проводилась специфическими рестриктазами согласно протоколам, описанным производителями ферментов. Рестрикция амплифицированных фрагментов производилась с помощью 5-10 U эндонуклеаз. Для оценки соответствия распределений генотипов и сравнения частот генотипов в выборках больных и здоровых людей использовали критерий Хи-квадрат Пирсона. Об ассоциации генотипов с предрасположенностью к полипозному риносинуситу судили по величине отношения шансов. **Результаты:** Установлено, что генотипы G/A-A/A гена *TNFα* (OR = 2,00, 95% CI 1,12-3,59, p=0,02) и генотип C/T гена *IL5* (OR=0,53, 95%CI 0,30-0,95, p=0,03) ассоциированы с риском развития ХПРС. Стратифицированный по полу анализ показал, что генотип G/A *TNFα* ассоциирован с развитием ХПРС у женщин (OR=3,54, 95%CI 1,28-9,80, p=0,02). **Заключение:** Полиморфные варианты генов *TNFα* и *IL5* цитокинов являются значимыми предикторами в оценке предрасположенности к хроническому полипозному риносинуситу.

Ключевые слова: цитокины; генетический полиморфизм; хронический полипозный риносинусит; анализ ассоциации

Благодарности: Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 14.132.21.1318 «Генетические аспекты хронических риносинуситов».

Arina S. Levchenko¹,
Oksana Yu. Mezentseva¹,
Olga Yu. Bushueva¹,
Anastasia A. Vorobyova²,
Maxim B. Freidin³,
Alexei V. Polonikov¹

**Study of *IL5*, *IL1* and *TNFα* genes polymorphisms
in the predisposition to chronic polypoid rhinosinusitis**

¹ Kursk State Medical University,
3 Karl Marx St., Kursk, 305004, Russia

² Semeyniy Doctor,
13/1 General Karbyshev St., Moscow, 123154, Russia

³ Department of Twin Research and Genetic Epidemiology, Kings College London,
SE1 7EH, Westminster Bridge Road, London, United Kingdom

Corresponding author: Arina S. Levchenko (arina.levchenko@bk.ru)

Abstract

Background: Chronic rhinosinusitis (CRS) is a common disease of the nose and paranasal sinuses with a protracted, relapsing course, whose treatment is often ineffective. Two forms of chronic rhinosinusitis are known: chronic bacterial rhinosinusitis and chronic polypoid rhinosinusitis (CPRS). CPRS is a multifactorial disease which is often associated with asthma and allergic rhinitis, but the mechanisms of these pathologies appearance with the nasal polyposis are still not clear. Therefore, additional studies to understand the pathophysiological features of CPRS are more relevant today. **The aim of the study:** To study the relationship of polymorphic variants of *TNFα*, *IL1*, and *IL5* cytokine genes with the risk of developing chronic polypoid rhinosinusitis. **Materials and methods:** 100 patients with chronic polyposis rhinosinusitis and 100 healthy individuals were examined at the ENT department of Kursk Regional Clinical Hospital and at the ENT department of Kursk City Hospital No. 1 named after N.S. Korotkov from 2010 to 2012 years.

All patients were sampled venous blood from the cubital vein in 5 ml tubes with 0.5 ml of 0.5 M EDTA (pH = 7.8), after which the genomic DNA was isolated by a standard phenol-chloroform extraction method. Genotyping of polymorphic variants of genes was carried out by polymerase chain reaction (PCR) methods. The processing of PCR products was carried out by specific restriction enzymes according to the protocols described by the enzyme producers. Restriction of the amplified fragments was performed with 5-10 U endonucleases. The Chi-square Pearson test was used to assess the correspondence between genotype distributions and the comparison of genotype frequencies in samples of patients and healthy people. The association of genotypes with a predisposition to polypous rhinosinusitis was judged by the magnitude of the odds ratio. **Results:** It was established that the genotypes G/A - A/A of *TNFA* gene (OR = 2.00, 95% CI 1.12-3.59, p = 0.02) and the C/T genotype of *IL5* gene (OR = 0.53, 95 % CI 0.30-0.95, p = 0.03) are associated with a risk of developing CPRC. The sex-stratified analysis showed that the G/A genotype of *TNFA* gene is associated with CPRS development in women (OR = 3.54, 95% CI 1.28-9.80, p = 0.02). **Conclusion:** Polymorphic variants of the *TNFA* and *IL5* cytokines genes are significant predictors in assessing predisposition to chronic polypoid rhinosinusitis.

Keywords: cytokines; genetic polymorphism; chronic polypoid rhinosinusitis; analysis of association

Acknowledgements: The study was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, agreement 14.132.21.1318 "Genetic aspects of chronic rhinosinusitis"

Введение. Хронический риносинусит (ХРС) – это распространенное заболевание носа и околоносовых пазух с затяжным, рецидивирующим течением, лечение которого часто малоэффективно. В клинической практике известно две формы хронического риносинусита: хронический бактериальный риносинусит и хронический полипозный риносинусит (ХПРС). [1]

ХПРС – многофакторное заболевание. В развитие болезни вносят вклад как эндогенные факторы, так и экзогенные, которые провоцируют заболевание и способствуют возникновению рецидивов. В настоящее время считается, что большое значение в патогенезе различных форм риносинуситов имеет измененная иммунологическая реактивность организма как на системном, так и на местном уровнях. В литературе активно обсуждается значимая роль цитокинов и несостоятельности факторов местной защиты в очаге воспаления в патогенезе ХПРС. [2]

Симптомы ХПРС включают наличие выделений из носа, заложенность носа, гипосмии, головной боли или

болезненности в области лица, которые сохраняются в течение более 12 недель. Это заболевание часто ассоциируется с астмой и аллергическим ринитом, однако механизмы возникновения этих патологий наряду с полипозом носа не ясны до сих пор. Поэтому весьма актуально на сегодняшний день дополнительные исследования для понимания патофизиологических особенностей ХПРС. [3]

Считается, что в формировании носового полипа играют роль два фактора: аномальное проявление ремоделирующих свойств слизистой носа и дисбаланс в иммунорегуляторных эффектах. [4] Весьма противоречивы опубликованные данные о цитокиновом профиле в секрете полости носа и пазух при различных формах риносинуситов. Считается, что такое разнообразие результатов связано со сложным течением воспалительных процессов, возникающих в результате комбинированного воздействия вирусов и бактерий, а также с противоположным эффектом противовирусного и противобактериального иммунных ответов. [5]

ХПРС является результатом Th2-воспаления с накоплением эозинофилов, Т-клеток, нейтрофилов и плазматических клеток, связанных с повышенными уровнями IL5 и IgE и пониженным уровнем трансформирующего фактора роста (TGF) β 1. [6]

О генетической предрасположенности к ХПРС стали говорить после того, как заметили, что случаи данной патологии повторяются в семьях. Например, французские ученые в 2002 г. обнаружили, что больше чем половина из 224 обследованных ими пациентов с ХПРС (52 %) имели положительный наследственный анамнез. [7]. Исследование генов, контролирующих активность цитокинов, — одна из важных задач в раскрытии предрасположенности к различным патологиям на ранних сроках [8]. В литературе есть единичные исследования по оценке вовлеченности генов цитокинов в развитие ХПРС.

Цель исследования. Изучить ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов в формировании предрасположенности к хроническому риносинуситу с носовым полипозом.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования послужила выборка из 100 человек в возрасте от 18 до 60 лет, находившихся на лечении в ЛОР-отделении БМУ «Курская областная клиническая больница» и ЛОР-отделении ОБУЗ «Курская городская больница №1 им. Н.С. Короткова» с 2010 по 2012 гг. и контрольной группы 100 человек. По половозрастному составу различий между группами выявлено не было. У всех исследуемых проводился забор венозной крови из кубитальной вены в пробирки объемом 5 мл с 0,5 мл 0,5 М ЭДТА (pH=7,8).

Выделение ДНК осуществлялось стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Осажденные центрифугированием лейкоциты лизировали в ТЕ-буфере, клеточную суспензию инкубировали в течение 16 часов в термостате при температуре 37°C. Геномную ДНК экстрагировали из клеточного лизата фенолом и хлороформом, преципитировали 96% этанолом (-20°C),

высушивали, растворяли в ТЕ-буфере, замораживали и хранили при -20°C.

ПЦР проводили в 12 мкл реакционной смеси, содержащей 0,5 мкл образца геномной ДНК. С целью оптимизации ПЦР для каждой пары праймеров был рассчитан оптимальный температурно-временной режим отжига и подобрана соответствующая концентрация $MgCl_2$. Обработка продуктов ПЦР проводилась специфическими рестриктазами согласно протоколам, описанным производителями ферментов. Рестрикция амплифицированных фрагментов производилась с помощью 5-10 U эндонуклеаз. После инкубации рестрикционной смеси проводили разделение фрагментов ДНК с помощью электрофореза. После электрофореза окрашенные этидиумбромидом гели визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете на приборе компьютерной видеосъемки GDS-8000 с помощью программного аналитического пакета LabWorksTMv4.5 (США). [9]

Для оценки соответствия частот генотипов ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга и для сравнения частот генотипов в выборках больных и здоровых людей использовали критерий Хи-квадрат. [10, 11] Об ассоциации генотипов с предрасположенностью к полипозному риносинуситу судили по значению отношения шансов (odds ratio, OR) и 95% доверительному интервалу (95% CI). [12]. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. В таблице 1 представлены частоты аллелей и генотипов полиморфизмов генов *IL-1 β* , *IL-5* и *TNF α* . Генотипы исследуемых полиморфизмов находились в соответствии с распределением Харди-Вайнберга ($p < 0,05$). Аллель -308 G/A (OR=1,92 95%CI 1,18-3,12, $p=0,01$) и генотипы G/A-A/A (OR = 2,00, 95% CI 1,12-3,59, $p=0,02$) гена *TNF α* были ассоциированы с повышенным риском развития ХПРС, в то время как генотип C/T *IL5* — с пониженным риском развития ХПРС (OR=0,53, 95%CI 0,30-0,95, $p=0,03$). Статистически значимых различий в частотах аллелей и генотипов полиморфизмов гена *IL1 β* не установлено.

Таблица 1

Частоты аллелей и генотипов исследуемых ДНК-маркеров в группах больных хроническим полипозным синуситом и здоровых индивидов

Table 1

The frequencies of alleles and genotypes of the studied DNA markers in groups of patients with chronic polypoid sinusitis and healthy individuals

Ген	Полиморфизм и его локализация в гене	Аллели		Частоты аллелей		Критерий различий, χ^2 (p)
				Больные	Контроль	
TNF α	-308 G/A (5'UTR)	G		0,835	0,725	p=0,01
		A		0,275	0,165	
IL1 β	-511 C/T (5'UTR)	C		0,650	0,635	p<0,05
		T		0,350	0,365	
IL5	-703 C/T (5'UTR)	C		0,765	0,680	p<0,05
		T		0,235	0,320	
Ген	Генотипы	Распределение генотипов, n (%)				Критерий различий при df=1
		Больные		Контроль		
		n	%	n	%	
TNF α	G/G	55	55,0	71	71,0	P<0,05
	G/A	35	35,0	25	25,0	P=0,02
	A/A	10	10,0	4	4,0	P=0,02
IL1 β	C/C	43	43,0	42	42,0	p<0,05
	C/T	41	41,0	46	46,0	p<0,05
	T/T	16	16,0	12	12,0	p<0,05
IL5	C/C	60	60,0	48	48,0	p<0,05
	C/T	33	33,0	48	48,0	p=0,03
	T/T	7	7,0	4	4,0	p <0,05

Стратифицированный анализ по полу (таблица 2) показал, что частота генотипа G/A TNF α была выше в группе женщин, больных полипозным риносинуситом

(OR=3,54, 95%CI 1,28-9,80, p=0,02) и составила 43%, а в группе контроля 17%. Таким образом, носительство генотипа G/A TNF α ассоциировано с повышенным риском

развития хронического полипозного риносинусита у женщин. Статистически значимых различий при сравнении частот генотипов полиморфных вариантов

исследуемых генов между группами больных хроническим полипозным риносинуситом и здоровых мужчин не выявлено ($p < 0,05$).

Таблица 2

Распределение частот генотипов полиморфных вариантов генов в группе больных хроническим полипозным риносинуситом, здоровых женщин и здоровых мужчин

Table 2

Frequency distribution of genotypes of polymorphic variants of genes in the group of patients with chronic polypoid rhinosinusitis, healthy women and healthy men

Ген	Полимор- физм и его локализац ия в гене	Геноти- пы	Распределение генотипов, n (%)				Крите- рий различи й, χ^2 (p)	Геноти- пы	Распределение генотипов, n (%)				
			Боль- ные		Конт- роль				Боль- ные		Контроль		
			n	%	n	%			n	%	n	%	
		женщины						мужчины					
<i>TNFα</i>	-308G/A (5'UTR)	G/G	18	43	32	80	p<0,05	G/G	37	64,0	39	65,0	
		G/A	18	43	7	17	p=0,02	G/A	17	29,0	18	30,0	
		A/A	6	14	1	3	p<0,05	A/A	4	7,0	3	5,0	
<i>IL1β</i>	-511 C/T (5'UTR)	C/C	18	43	21	53	p<0,05	C/C	25	43,0	21	35,0	
		C/T	18	43	14	35	p<0,05	C/T	23	40,0	32	53,0	
		T/T	6	14	5	12	p<0,05	T/T	10	17,0	7	12,0	
<i>IL5</i>	-703C/T (5'UTR)	C/C	23	55	20	50	p<0,05	C/C	37	64,0	28	47,0	
		C/T	14	33	18	45	p<0,05	C/T	19	33,0	30	50,0	
		T/T	5	12	2	5	p<0,05	T/T	2	3,0	2	3,0	

В последние годы проводились отдельные исследования по анализу ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов с риском развития ХПРС. Так, американское исследование показало, что повышенный риск развития полипоза носа имеет место у носителей генотипа *TNF α* (rs1800629). [13] Румынские ученые установили, что гаплотип TGG гена *TNF α* ассоциируется с пониженным риском развития полипоза носа. [14] В нашем исследовании варианты генотипы G/A-A/A гена *TNF α* были ассоциированы с повышенным риском развития ХПРС.

Однако турецкое исследование 71 пациента с ХПРС и 91 добровольцев контрольной группы показало, что наличие генотипа GG в области *TNF- α -308* способствует возникновению назального полипоза (OR: 9,2, $p = 0,007$ и OR: 33,3, $p = 0,001$, соответственно) [15]

TNF α принадлежит семейству генов провоспалительных цитокинов, которые продуцируются различными клетками, включая эпителиальные клетки и макрофаги, которые действуют синергически в процессе хронического воспаления. *TNF α* способствует миграции

эозинофилов в собственную пластинку слизистой носа и пазух посредством регуляции экспрессии молекул адгезии в носовых полипах. [16] При исследовании ассоциаций отдельно у мужчин и женщин нами были обнаружено, что у женщин повышенный риск развития ХПРС ассоциирован с генотипом G/A гена *TNFα*. Таким образом, нами впервые установлен половой диморфизм в ассоциации гена *TNFα* с развитием полипозного риносинусита.

В полипах носа зачастую выявляют повышенные концентрации *TNFα* и *TNFβ*, а их основным источником считаются эозинофилы. [17] Тканевые эозинофилы при полипозе носа способствуют активации *TNFα*, что способствует формированию стромального фиброза и утолщению базальной мембраны. [18]

При хроническом полипозном риносинусите эозинофилы могут способствовать возникновению отека. Однако ученые из Японии, Южной Кореи и Малайзии обнаружили, что у большинства пациентов с ХПРС преобладает незозинофильное воспаление. Это может говорить о том, что патофизиологические проявления ХПРС, возможно, зависят от расы, климата и географического региона. [19, 20]

IL5 – цитокин, ответственный за созревание и дифференцировку В-клеток и эозинофилов. Он играет главную роль в формировании и созревании эозинофилов, а его повышенная продукция может быть связана с патогенезом эозинофил-ассоциированных заболеваний. Ген *IL5* расположен на хромосоме 5 в пределах кластера генов цитокинов, который включает *IL4*, *IL13* и колониестимулирующий фактор (*CSF2*). Поскольку этот цитокин усиливает активацию эозинофилов, имеющиеся данные указывают на *IL5* как на ключевой белок в патогенезе тканевой эозинофилии при носовом полипозе. [21]

При исследовании ассоциации полиморфизма гена *IL5* –703C>T с развитием ХПРС среди жителей

Новосибирска было выявлено более чем двукратное повышение частот генотипа T/T *IL5* среди больных ХПРС. [22] В нашем исследовании гетерозиготный генотип C/T *IL5* был ассоциирован с пониженным риском развития ХПРС.

Заключение. Полиморфные варианты генов *TNFα* и *IL5* цитокинов являются значимыми предикторами в оценке предрасположенности к хроническому полипозному риносинуситу. Дальнейшее изучение молекулярно-генетических механизмов ХПРС представляет собой важное направление исследований, которое, в конечном счете, позволит разработать персонализированные подходы к профилактике и лечению больных, страдающих данной патологией.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Differential expression of innate immunity genes in chronic rhinosinusitis / K.Y. Detwiller [et al.] // Am. J. Rhinol. Allergy. 2014. Vol. 28(5). P. 374-377. DOI: <https://doi.org/10.2500/ajra.2014.28.4082>
2. Тараканова Е.Н., Гурьева И.А., Кучерова Л.Р. Оценка показателей общего иммунитета и фагоцитарной активности нейтрофилов у больных риносинуситом // Российская оториноларингология. 2007. Т. 1, N 26. С. 173-176.
3. Stevens W.W., Schleimer R.P., Kern R.C. Chronic rhinosinusitis with nasal polyps // The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice. 2016. Vol. 4(4). P. 565-572. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2016.04.012>
4. Hypotheses about the potential role of mesenchymal stem cell on nasal polyposis: a soft inflamed tissue suffering from mechanical dysfunction / R. Pezato [et al.] // Austin Immunol. 2016. Vol. 1(1). P. 1004.
5. Особенности реагирования местного иммунитета слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух при остром и рецидивирующем гнойном синусите / М.С. Плужников [et al.] // Российская оториноларингология. 2008. Т. 3, N 34. С. 90-95.
6. Peripheral blood and tissue T regulatory cells in chronic rhinosinusitis / S. Sharma [et al.] // Am. J. Rhinol. Allergy. 2012. Vol. 26(5). P. 371-379. DOI: <https://doi.org/10.2500/ajra.2012.26.3800>

7. Epidemiological and clinical aspects of nasal polyposis in France; the ORLI group experience / M. Rugina [et al.] // *Rhinology*. 2002. Vol. 40(2). P. 75-79.

8. Генетическая диагностика: полиморфизм генов цитокинов / Ф.Ф. Ризванова [и др.] // *Практическая медицина*. 2010. Т. 6, N 45. С. 41-43.

9. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д. Методы генной инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. 480 с.

10. Вейр Б. Анализ генетических данных. М.: Мир, 1995. 400 с.

11. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2006. 312 с.

12. Schlesselman J. Case-control studies. Design, conduct, analysis // Oxford University Press, 1982. P. 58-96.

13. Genetic polymorphisms in chronic hyperplastic sinusitis with nasal polyposis / J.M. Bernstein [и др.] // *Laryngoscope*. 2009. Vol. 119(7). P. 1258-1264. DOI: <https://doi.org/10.1002/lary.20239>

14. Association of TNF-alpha gene polymorphism with nasal polyposis in Romanian asthmatic patients / E.C. Berghea [et al.] // *Romanian Journal of Rhinology*. 2014. Vol. 4(15). P. 149-155.

15. TNF- α and IL-1 β Cytokine Gene Polymorphism in Patients with Nasal Polyposis / O. Ismi [et al.] // *Turkish archives of otorhinolaryngology*. 2017. Vol. 55(2). P. 51. DOI: [10.5152/Tao.2017.2389](https://doi.org/10.5152/Tao.2017.2389)

16. Proinflammatory cytokine single nucleotide polymorphisms in nasal polyposis / S.S. Erbek [et al.] // *Arch Otolaryngol. Head Neck Surg*. 2007. Vol. 133(7). P. 705-709. DOI: [10.1001/archotol.133.7.705](https://doi.org/10.1001/archotol.133.7.705)

17. Histological characteristics of chronic rhinosinusitis with nasal polyps: recent 10-year experience of a single center in Daegu, Korea / S.H. Shin [et al.] // *American journal of rhinology & allergy*. 2014. Vol. 28(2). P. 95-98. DOI: <https://doi.org/10.2500/ajra.2014.28.4003>

18. The role of cytokines in infectious sinusitis and nasal polyposis / C. Bachert [et al.] // *Allergy*. 1998. Vol. 53(1). P. 2-13. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1998.tb03767.x>

19. Kramer M., Rasp G. Nasal polyposis: eosinophils and interleukin-5 // *European journal of allergy and clinical immunology*. 1999. Vol. 54(7). P. 669-680. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.1999.00095.x>

20. Malaysian nasal polyps: eosinophil or neutrophil predominant / O. Syuhada [et al.] // *Medicine and Health*. 2016. Vol.11(1). P. 56-61.

21. Bachert C., Cauwenberge V.P.B. Inflammatory mechanisms in chronic sinusitis // *Acta Oto-rhino-laryngologica Belgica*. 1997. Vol. 51(4). P. 209-217.

22. Исследование полиморфизма генов интерлейкинов у больных с хроническим полипозным синуситом / Е.В. Данигевич [и др.] // *Российская оториноларингология*. 2007. Т. 5, N 30. С.70-75.

References

1. Detwiller KY, Smith TL, Alt JA, et al. Differential expression of innate immunity genes in chronic rhinosinusitis. *Am. J. Rhinol. Allergy*. 2014 Oct;28(5):374-377. DOI: <https://doi.org/10.2500/ajra.2014.28.4082>

2. Tarakanova EN, Gurieva IA, Kucheroва LR. [Evaluation indicators of the overall immunity, and phagocytic activity of neutrophils in patients with rhinosinusitis]. *Rossiyskaya otorinolaringologiya*. 2007;1(26):173-176. Russian.

3. Stevens WW, Schleimer RP, Kern RC. Chronic rhinosinusitis with nasal polyps. The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice. 2016 Jul-Aug;4(4):565-572. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2016.04.012>

4. Pezato R, Gregorio LC, Voegels RL, et al. Hypotheses about the potential role of mesenchymal stem cell on nasal polyposis: a soft inflamed tissue suffering from mechanical dysfunction. *Austin Immunol*. 2016 Aug;1(1):1004.

5. Pluzhnikov MS, Lavrenova GV, Katinas EB, et al. [Features of local immunity response of the mucous membrane of the nasal cavity and paranasal sinuses in acute and recurrent purulent sinusitis]. *Rossiyskaya otorinolaringologiya*. 2008;3(34):90-95. Russian.

6. Sharma S, Watanabe S, Sivam A, et al. Peripheral blood and tissue T regulatory cells in chronic rhinosinusitis. *Am. J. Rhinol. Allergy*. 2012 Sep-Oct;26(5):371-379. DOI: <https://doi.org/10.2500/ajra.2012.26.3800>

7. Rugina M, Serrano E, Klossek JM, et al. Epidemiological and clinical aspects of nasal polyposis in France: the ORLI group experience. *Rhinology*. 2002 Jun;40(2):75-79.

8. Rizvanova FF, et al. [Genetic diagnostics: polymorphism of cytokine genes]. *Prakticheskaya medicina*. 2010;6(45):41-43. Russian.

9. Maniatis T, Frich E, Sembruk D. [Methods of genetic engineering. Molecular cloning]. Moscow: Mir; 1984. 480 p. Russian.

10. Weir B. [Analysis of genetic data]. Moscow: Mir; 1995. 400 p. Russian.
11. Rebrova OY. [Statistical analysis of medical data. Application package application STATISTICA]. Moscow: MediaSfera; 2006. 312 p. Russian.
12. Schlesselman J. Case-control studies. Design, conduct, analysis. New York: Oxford University Press; 1982. 359 p.
13. Bernstein JM, Anon JB, Rontal M, et al. Genetic polymorphisms in chronic hyperplastic sinusitis with nasal polypsis. *Laryngoscope*. 2009 Apr;19(7):1258-1264. DOI: <https://doi.org/10.1002/lary.20239>
14. Berghea EC, Popa OM, Meirosu M, et al. Association of TNF-alpha gene polymorphism with nasal polypsis in Romanian asthmatic patients. *Romanian Journal of Rhinology*. 2014 Jul-Sep;4(15):149-55.
15. Ismi O, Ozcan C, Polat G, et al. TNF- α and IL-1 β cytokine gene polymorphism in patients with nasal polypsis. *Turkish archives of otorhinolaryngology*. 2017 Jun;55(2):51. DOI: [10.5152/Tao.2017.2389]
16. Erbek SS, Yurtcu E, Atac FB, et al. Proinflammatory cytokine single nucleotide polymorphisms in nasal polypsis. *Arch Otolaryngol. Head Neck Surg*. 2007 Jul;133(7):705-709. DOI: 10.1001/archotol.133.7.705
17. Shin SH, Ye MK, Kim JK, et al. Histological characteristics of chronic rhinosinusitis with nasal polyps: recent 10-year experience of a single center in Daegu, Korea. *American journal of rhinology and allergy*. 2014 Mar-Apr;28(2):95-98. DOI: <https://doi.org/10.2500/ajra.2014.28.4003>
18. Bachert C, Wagenmann M, Rudack C, et al. The role of cytokines in infectious sinusitis and nasal polypsis. *Allergy*. 1998 Apr;53(1):2-13. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1998.tb03767.x>
19. Kramer M, Rasp G. Nasal polypsis: eosinophils and interleukin-5. *European journal of allergy and clinical immunology*. 1999 Dec;54(7):669-680. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.1999.00095.x>
20. Syuhada O, Shalini P, Lim WK, et al. Malaysian nasal polyps: eosinophil or neutrophil predominant. *Medicine and Health*. 2016;11(1):56-61.
21. Bachert C, Cauwenberge VP. Inflammatory mechanisms in chronic sinusitis. *Acta Oto-rhino-laryngologica Belgica*. 1997 Jan;51(4):209-217.
22. Danigevich EV, Rymsha MA, Golovanova OV, et al. [Investigation of interleukin genes polymorphism in patients with chronic polypoid

sinusitis]. *Rossijskaya otorinolaringologiya*. 2007;5(30):70-75. Russian.

Информация об авторах

Арина Сергеевна Левченко, аспирантка второго года обучения по направлению подготовки Клиническая медицина; направленность: 14.01.03 Болезни уха, горла и носа; 03.02.07 Генетика, кафедра оториноларингологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: arina.levchenko@bk.ru.

Оксана Юрьевна Мезенцева, кандидат медицинских наук, доцент, кафедра оториноларингологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет».

Ольга Юрьевна Бушуева, кандидат медицинских наук, доцент, кафедра биологии, медицинской генетики и экологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет».

Анастасия Алексеевна Воробьева, кандидат медицинских наук, врач-оториноларинголог, АО «Семейный доктор».

Максим Борисович Фрейдин, доктор биологических наук, старший научный сотрудник, Отдел близнецовых исследований и генетической эпидемиологии, Королевский колледж Лондона.

Алексей Валерьевич Полоников, доктор медицинских наук, профессор, кафедра биологии, медицинской генетики и экологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет».

Information about the authors

Arina S. Levchenko, 2d-year Post-graduate Student of the Direction Clinical Medicine; Specialization: 14.01.03 Ear, Nose and Throat Diseases; 03.02.07 Genetics, Department of Otorhinolaryngology, Kursk State Medical University, E-mail: arina.levchenko@bk.ru.

Oksana Yu. Mezentseva, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Otorhinolaryngology, Kursk State Medical University.

Olga Yu. Bushueva, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Biology, Medical Genetics and Ecology, Kursk State Medical University.

Anastasia A. Vorobyova, Candidate of Medical Sciences, Otorhinolaryngologist, Semeyniy Doctor.

Maxim B. Freidin, Doctor of Biological Sciences, Senior researcher, Department of Twin Research and Genetic Epidemiology, Kings College London.

Alexei V. Polonikov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Biology, Medical Genetics and Ecology, Kursk State Medical University.

Статья поступила в редакцию 8 июня 2018 г.
Receipt date 2018 June 8.

Статья принята к публикации 16 сентября 2018 г.
Accepted for publication 2018 September 16.



УДК 616-02

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-3

И.Н. Сорокина,
Н.А. Рудых,
И.Н. Безменова,
И.С. Полякова

Популяционно-генетические характеристики и генетико-эпидемиологическое исследование ассоциаций генов-кандидатов с мультифакториальными заболеваниями

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

(НИУ «БелГУ»),

ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Российская Федерация

Автор для переписки: И.Н. Сорокина (sorokina@bsu.edu.ru)

Информация для цитирования: Популяционно-генетические характеристики и генетико-эпидемиологическое исследование ассоциаций генов-кандидатов с мультифакториальными заболеваниями / И.Н. Сорокина [и др.] // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 4. С. 20-30. [Sorokina IN, Rudykh NA, Bezmenova IN, et al. Population genetic characteristics and genetic epidemiological research of candidate genes associations with multifactorial diseases. Research Results in Biomedicine. 2018;4(4):20-30 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-3

Аннотация

Актуальность: При изучении ассоциаций генов-кандидатов с мультифакториальными заболеваниями важное значение имеет формирование выборок для исследования. Одним из факторов, который следует учитывать при формировании выборок для генетико-эпидемиологического исследования являются региональные особенности генетической структуры населения. **Цель исследования:** Изучить факторы гетерогенности популяционно-генетической структуры населения юга Центральной России (Белгородская область) и оценить их роль при планировании генетико-эпидемиологического исследования населения. **Материалы и методы:** Изучена генетическая структура населения Белгородской области с использованием аутосомных ДНК-маркеров (8 локусов – *ApoB*, *eNOS*, *CCR5*, *hSERT*, *D1S80*, *DAT1*, *PAH* и *ACE* у 620 индивидуумов 4 районов); иммунобиохимических маркеров генов (12 систем – *ACPI*, *ABO*, *ESD*, *RH*, *HP*, *GC*, *PI*, *C'3*, *GLO1*, *PGM1*, *6-PGD*, *TF* у 582 индивидуумов 4 районов); маркеров Y-хромосомы (20 диаллельных локусов нерекombинирующей части Y-хромосомы: M1 (YAP), M9, M17, M46 (Tat), M70, M78, M170, M172, M173, M178, M201, M223, M231, M242, M253, M269, 12F2, P37, P43, 92R7 и 7 STR маркеров: DYS385a/b, DYS388, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS19 (DYS394) у 403 индивидуумов 5 районов) и квазигенетических маркеров (48902 фамилий среди 822316 человек в 21 районе). Оценена роль миграций и этнического фактора в формировании генетической гетерогенности популяций. **Результаты:** Установлено, что факторами, обуславливающими генетические различия районных популяций Центрального Черноземья, являются миграции и этническая принадлежность. Увеличение притока мигрантов приводит к снижению уровня подразделенности и формированию гетерогенности популяционно-генетической структуры населения. Выявлены различия между двумя этническими группами белгородской популяции (русские и украинцы) по трем

аллелям двух систем классических генных маркеров (ABO и GC); гаплогруппе E3b1 и DYS390*24, DYS19*13, DYS19*14 STR локусов Y-хромосомы. Анализ генетических взаимоотношений показал, что русское население Белгородской области объединяется в самостоятельный кластер, а украинское население области генетически удалено от него. **Заключение:** Значимыми факторами популяционной динамики, влияющим на уровень генетического разнообразия населения являются миграции и этническая принадлежность. Таким образом, при формировании выборок для медико-генетического и генетико-эпидемиологического исследования населения необходимо учитывать место рождения супругов и национальность.

Ключевые слова: полиморфизм; ассоциации; генофонд; миграции; национальность

Inna N. Sorokina,
Natalia A. Rudykh,
Irina N. Bezmenova,
Irina S. Polyakova

Population genetic characteristics and genetic epidemiological research of candidate genes associations with multifactorial diseases

Belgorod State National Research University,
85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia
Corresponding author: Inna N. Sorokina (sorokina@bsu.edu.ru)

Abstract

Background: When studying associations of candidate genes with multifactorial diseases, the formation of samples for research is important. One of the factors that should be considered in the formation of samples for genetic-epidemiological research are regional features of the genetic structure of the population. **The aim of the study:** To study the factors of heterogeneity of the population-genetic structure of the population of southern Central Russia (Belgorod region) and assess their role in the planning of a genetic and epidemiological study of the population. **Materials and methods:** The genetic structure of the population of the Belgorod region was studied using autosomal DNA markers (8 loci — *ApoB*, *eNOS*, *CCR5*, *hSERT*, *D1S80*, *DAT1*, *PAH* and *ACE* in 620 individuals of 4 districts); immunobiochemical gene markers (12 systems - *ACP1*, *ABO*, *ESD*, *RH*, *HP*, *GC*, *PI*, *C'3*, *GLO1*, *PGM1*, *6-PGD*, *TF* in 582 individuals of 4 regions); Y-chromosome markers (20 diallel loci of the non-recombining part of the Y-chromosome: M1 (YAP), M9, M17, M46 (Tat), M70, M78, M170, M172, M173, M178, M201, M223, M231, M242, M253, M269, 12F2, P37, P43, 92R7 and 7 STR markers: DYS385a/b, DYS388, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS19 (DYS394) in 403 individuals of 5 districts) and quasi-genetic markers (48902 names among 822316 people area). The role of migration and the ethnic factor in the formation of the genetic heterogeneity of populations has been evaluated. **Results:** It has been established that migration and ethnicity are the major factors responsible for the genetic differences in the regional populations of the Central Black Soil Region. An increase in the influx of migrants results in a decrease in the level of division and the formation of heterogeneity of the population and genetic structure of people. The differences between the two ethnic groups of the population of the Belgorod region (Russians and Ukrainians) were revealed in the three alleles of the two systems of classical gene markers (ABO and GC); haplogroup E3b1 and DYS390*24, DYS19*13, DYS19*14 STR Y-chromosome loci. An

analysis of genetic relationships has shown that the Russian population of the Belgorod Region is grouped together in an independent cluster, and the Ukrainian population of the region is genetically removed from it. **Conclusion:** Significant factors of population dynamics that affect the level of genetic diversity of the population are migration and ethnicity. Thus, in the formation of samples for medicogenetic and genetic-epidemiological studies of the population, it is necessary to take into account the place of birth of spouses and nationality.

Keywords: polymorphism; associations; gene pool; migration; nationality

Введение. Одной из задач современной генетики человека является изучение ассоциаций генов-кандидатов с мультифакториальными заболеваниями. При планировании генетико-эпидемиологических исследований населения важное значение имеют критерии к формированию выборок для исследования. Одним из таких критериев являются демографические характеристики (национальность, миграционная активность, степень урбанизации и т.д.). Результаты многочисленных современных исследований генетической гетерогенности и территориальной изменчивости наследственных болезней среди различных этнотерриториальных групп показали, что даже в пределах одного этноса наблюдается значительная вариабельность генетических характеристик [1-4].

Полученные к настоящему времени данные свидетельствуют о различиях в характере ассоциаций полиморфных локусов генов-кандидатов с развитием мультифакториальных заболеваний. В обзоре литературы, который посвящен изучению вклада генов матриксных металлопротеиназ в формирование эссенциальной гипертензии и ее осложнений Москаленко М.И. [3] показано, что вклад генов матриксных металлопротеиназ в формирование эссенциальной гипертензии отличается в разных популяциях. Так, например, при изучении связи между полиморфным маркером rs1799750 *MMP-1* и эссенциальной гипертензией среди мексиканцев [4] и у населения Австралии [5] значимых отличий в частотах аллелей и генотипов между группой больных и контрольной группой ($p < 0,05$) выявлено не было. Тогда как в сербской [6], бразильской [7] и китайской [8] популяциях учеными установлена связь полиморфизма -1607 1G/2G *MMP-1* (rs1799750) с развитием сердечно-

сосудистой патологии. Аналогично, вовлеченность полиморфизма rs243865 гена *MMP-2* в развитие артериальной гипертензии и ремоделирование сосудов левого желудочка у больных эссенциальной гипертензией подтверждается при изучении бразильского населения [9], однако эти данные не согласуются с результатами исследования рабочей группы I.F. Metzger et al., которыми в ходе мета-анализа ассоциаций между данным полиморфизмом и возникновением эссенциальной гипертензии выявлено не было [10]. Автор объясняет наблюдаемые различия неоднородностью этнического состава исследуемых групп, дизайном исследований, а также рядом других факторов [3].

Следует отметить, что генетические различия и их выраженность между популяциями одного этноса, проживающих на единой территории также может значительно варьировать. Так, в многочисленных работах Балановской Е.В., Балановского О.П. установлено, что генетическая изменчивость в русских популяциях превышает изменчивость немцев, но меньше, чем изменчивость многих других европейских народов, например итальянцев. [11]. Установлено, что южнорусское население в генетическом коде получили большое сходство с соседними восточными и западными популяциями, а северные – с балтийскими. Северяне, а именно население Архангельской, Костромской и Вологодской областях существенно отличаются от людей, которые живут в центральной и южной полосе. Генетически они гораздо ближе к балтам и татарам – народам, проживающим на севере Европы (от Балтийского моря и до республики Коми). При этом в южной полосе русские очень похожи на белорусов, чуть меньше – на поляков и украинцев [11].

Эти различия в пределах одного народа (этноса), проживающего на огромной территории отражают особенности расселения и миграций, как в прошлом, так и в настоящем. В связи с этим, другим критерием, который необходимо учитывать при формировании выборки для генетико-эпидемиологических исследований населения являются миграции. Именно миграции в популяционной генетике выступают в качестве одного из основных факторов популяционной динамики, который в значительной степени изменяет уровень генетического разнообразия популяций. Вследствие высокой миграционной активности значительная часть современного населения представлена этнически, и как следствие генетически смешанными популяциями. Значимая роль миграционных процессов в формировании популяционной структуры установлена ранее при проведении популяционно-генетических исследований населения Костромской, Кировской областей, Краснодарского края, республики Адыгея, Карачаево-Черкесии, ряда городов РФ (Москва, Курск, Томск, Кострома и др.) [12-16].

Цель исследования. Изучить факторы гетерогенности популяционно-генетической структуры населения юга Центральной России (Белгородская область) и оценить их роль при планировании генетико-эпидемиологического исследования населения.

Материалы и методы. Проведена комплексная оценка популяционно-генетической структуры населения Белгородской области (юг Центральной России) с использованием четырех типов маркеров: аутосомных ДНК-маркеров, иммунобиохимических маркеров, генов Y-хромосомы и квазигенетических маркеров (фамилии).

Белгородская область в современных границах представляет южные районы исторического ареала русских и отличается большой численностью и плотностью русского населения. Населения области формировалось за счет миграционных потоков русских с различных территорий. Также, необходимо отметить, что Белгородская область располагается на границе Украины и России:

540 км из 1150 км приходится на границу с Украиной. Таким образом, население области исторически формировалось под значительным влиянием, как русского, так и украинского этносов. Современное население Белгородской области характеризуется высоким иммиграционным притоком, а также большим удельным весом межэтнических браков.

Проведено исследование 8 полиморфных аутосомных ДНК-локусов (*eNOS*, *hSERT*, *PAH*, *DAT1*, *D1S8*, *CCR5*, *ACE*, и *ApoB*) среди населения 4 районов Белгородской области: Прохоровский (146), Красненский (152), Красногвардейский (42) и Грайворонский (42). Всего изучено 620 человек из них 298 – русские (Прохоровский и Красненский р-ны) и 84 украинцы (Красногвардейский и Грайворонский р-ны). Результаты по распределению аутосомных ДНК-маркеров представлены ранее Рудых Н.А. [17,18]. Изучение иммунобиохимических маркеров генов (33 аллеля 12 локусов – *ESD*, *RH*, *GC*, *HP*, *ABO*, *PGM1*, *TF*, *C'3*, *PI*, *ACP1*, *GLO1*, *6-PGD*) проводилось у 582 индивидуумов тех же районов (152, 146, 42 и 42 человек соответственно, в т.ч. 298 русских и 84 украинцев) Лепендиной И.Н. [19].

Полиморфизм 20 диаллельных локусов нерекombинирующей части Y-хромосомы: M9, M78, M17, M172, M46 (Tat), M1 (YAP), M70, M178, M170, M173, M231, M201, M223, M269, M242, P37, M253, P43, 12F2, 92R7 и 7 STR маркеров: DYS388, DYS392, DYS393, DYS390, DYS391, DYS385a/b, DYS19 (DYS394), изучался у 403 человек 5 районов: Прохоровский (114), Яковлевский (140), Красненский (96), Грайворонский (20) и Красногвардейский (33) (из них 350 русских и 53 украинцев). Данные по распределению этих полиморфизмов представлены в работе Цапкова Л.А. [20].

В качестве квазигенетических маркеров использовались фамилии – изучалось распределение все фамилий (48902) среди всего населения (822316 человек) Белгородской области (21 район). По частотам фамилий рассчитывался случайный инбридинг с помощью коэффициента изонимии f_I [21]. В зависимости от уровня подразделенности f_I , все районы были разделены на группы. При

этом r -ны с показателем $f_r = 0,00016 - 0,00037$ располагаются в центральной части области, а r -ны с $f_r = 0,00038 - 0,00138$ – по периферии области). Данные по уровню подразделенности в районах Белгородской области представлены нами ранее [21]. Для выявления роли миграций в формировании генетической структуры белгородской популяции проводился расчет рангового коэффициента корреляции Спирмена между показателем f_r и миграционной активностью населения. Данные по миграционной активности населения и этническому составу получены в Белгородстате. Математическая обработка проводилась с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что миграционный прирост на 10 тысяч человек населения Белгородской области за I полугодие 2018 г. составил 18,7, что значительно превышает аналогичный показатель по другим областям Центрального Черноземья (в Липецкой области он составил 9,8, в Воронежской – 9,1, а в Курской и Тамбовской областях сложилась миграционная убыль населения). Следует отметить, что в последние годы наблюдается незначительное снижение миграционной активности населения. Так, по данным Белгородстат за I полугодие 2018 г. миграционный приток по сравнению с прошлым годом снизился на

21,3 % (1265 человек в 2018 г., 1608 человек в 2017 г.). Данная тенденция наблюдается и в целом по России. Следует отметить, что миграционная активность в Белгородской области является высокой на протяжении последних десятилетий (табл.). Максимальная миграционная активность в регионе наблюдалась на рубеже 20-21 вв. Пик миграционного притока населения в районные популяции Белгородской области пришелся на 1995-2000 гг. (табл.), существенно превышая аналогичные показатели в Центральном федеральном округе и в России. Установлено, что за период с 1990 по 2000 г. миграционный прирост населения в Белгородскую область составлял в среднем 33,5 чел. на 1000 жителей. При этом минимальный приток мигрантов наблюдался в Красногвардейском районе (13,7), а максимальный – в Белгородском районе (56,5). Также установлено, что на 2000 г. миграционный прирост в Белгородскую область (9,9 на 1000 жителей) был одним из самых интенсивных в РФ (в среднем 1,9 на 1000 жителей по регионам РФ на 1998 г.). Такой уровень миграционной активности населения может быть сопоставим с аналогичным показателем в Ставропольском крае, Оренбургской области, Москве и Московской области. Данные регионы характеризуются самым высоким коэффициент миграционной нагрузки в РФ.

Таблица

Миграционный прирост населения Белгородской области [22]

Table

Migration increase in the population of the Belgorod region [22]

Годы	Человек	На 1000 человек населения
1990	10406	7,5
1995	20585	14,1
2000	16467	10,9
2001	13060	8,7
2002	15206	10,1
2003	12477	8,2
2004	8531	5,6
2005	10735	7,1
2006	11138	7,4
2007	12690	8,4
2008	11788	7,7
2009	10689	7,0
2010	5964	3,9

2011	8350	5,4
2012	8591	5,6
2013	6566	4,3
2014	7591	4,9
2015	5918	3,8
2016	7067	4,5
2017	2839	1,8

Основной поток миграций – 63%, осуществляется в городские популяции области, 37% – в сельскую местность. Необходимо отметить, что районные популяции Белгородской области испытывают разную миграционную нагрузку. Ранее нами все районы (21) Белгородской области были разделены на три группы в зависимости от уровня подразделенности f_r (рис. 1) [21]. Первая группа, характеризующаяся низким уровнем подразделенности. В неё вошли 9 из 21 района (43% всех районов), расположенных в центральной части области и на

юго-западе. Большинство районов I группы (7 из 9) отличаются высоким уровнем урбанизации, так как в их состав входят городские популяции. Белгородский, Борисовский, Валуйский, Шебекинский районы этой группы территориально граничат с Украиной (рис.1), что значительно увеличивает приток мигрантов из Украины на эти территории. По данным Белгородстат второе место после русских (71,1%) в структуре мигрантов, прибывших в 2000-2004 годы в область, занимают украинцы (14,6%) [22].



Рис. 1. Схема расположения районных популяций Белгородской области в зависимости от уровня подразделенности (f_r)

Fig. 1. The layout of the areas of the Belgorod region, depending on the level of division (f_r)

Таким образом, максимальный миграционный приток (в среднем 38,5 человек на 1000 жителей) наблюдался в районы низким уровнем f_r , которые располагаются в центре, на юго-западе и северо-востоке области. Районные популяции со средним и высоким значением уровнем f_r (II и III группы), находящиеся по периферии области отличаются низкой и примерно одинаковой миграционной активностью (в среднем 25,3 и 25,5 мигрантов на 1000 жителей, соответственно).

Увеличение миграционного притока в сельские районы Белгородской области влечет снижение уровня подразделенности и избыточности распределения фамилий. Коэффициент корреляции Спирмена между числом мигрантов на 1000 жителей, с одной стороны, и уровнем подразделенности (f_r^*) и избыточностью распределения фамилий (R), с другой, составил $\rho = -0,73$ ($p < 0,01$) и $\rho = -0,49$ ($p < 0,05$), соответственно. Следует отметить, что миграционный приток, компенсируя естественную убыль населения Белгородской области, обусловил рост численности населения в области за период 2000-2015 гг. на 4% [22].

В Белгородскую область прибывают россияне с Севера, иммигранты с Украины, из Казахстана, Кыргызстана, Узбекистана, Молдовы, Армении и Азербайджана и др. Активный миграционный приток населения приводит к изменению этнического состава популяций. По данным последней Всероссийской переписи населения 2010 г. национальный состав области представлен 161 национальностью и этнической группой, что в 1,3 раза больше, чем по предыдущей переписи 2002 г. (124 национальности) [22]. В структуре мигрантов на втором месте после русских (94,4%), также как и в конце 90-х – начале 2000-х гг. находятся украинцы (2,8%). Армяне (0,5%) сменили на третьем месте белорусов (0,22%), занявших шестое место. Турок стало больше, и они переместились с шестого места на четвертое (0,3%). Азербайджанцы сохранили пятое место (0,3%). Седьмое место, как и в 2002 году, у татар (0,21%). На другие национальности (молдаване, цыгане, немцы и др.) в Белгородской области приходится 1,27% [22].

Таким образом, значимое влияние на популяционно-генетическую структуру населения Белгородской области оказывает высокий миграционный приток, обуславливая снижение уровня подразделенности и повышая генетическую гетерогенность

Гетерогенность популяционно-генетической структуры населения Центрального Черноземья была установлена ранее нашим авторским коллективом с использованием различных типов маркеров: 12 иммунобиохимических маркеров генов (*ESD*, *GC*, *C'3*, *GLO1*, *RH*, *HP*, *TF*, *PI*, *ACP1*, *ABO*, *PGM1*, *6-PGD*) ($N=582$); 8 аутосомных ДНК-маркеров (*ApoB*, *ACE*, *eNOS*, *hSERT*, *D1S80*, *CCR5*, *PAH* и *DAT1*); 16 гаплогрупп Y-хромосомы (*R1a1*, *IIb*, *N3*, *IIa*, *R1b3*, *J2*, *E3B1*, *R1*, *K2*, *N2*, *IIc*, *J*, *D* и *E*, *G*, *K*, *Q*) и 7 STR маркеров; квазигенетические маркеры (фамилии, модель изоляции расстоянием Малёко). Именно такой комплексный подход с использованием широкого спектра различных маркеров позволяет наиболее полно и адекватно оценить генофонд популяций и охарактеризовать процессы, происходящие в ней.

Одним из факторов, обуславливающих генетические различия популяций, наряду с миграциями, является этническая принадлежность. В результате изучения распределения частот 50 аллелей 8 аутосомных ДНК маркеров: *ApoB*, *ACE*, *eNOS*, *hSERT*, *D1S80*, *CCR5*, *PAH* и *DAT1* охарактеризована структура генофонда русских (Красненский, Прохоровский районы) и украинских (Красногвардейский, Грайворонский районы) популяций Белгородской области [17, 18]. Установлено, что русское и украинское население области статистически достоверно не отличается что по частотам 50 аллелей 8 аутосомных ДНК маркеров [18]. Однако отличия между этими двумя этническими группами белгородской популяции были обнаружены при анализе иммунобиохимических генных маркеров [19] и гаплогрупп Y – хромосомы [20].

Анализ распределения частот иммунобиохимических генных маркеров (33 аллеля 12 локусов) среди двух этнотерриториальных групп населения белгородской популяции показал различия по трем аллелям двух

систем классических генных маркеров: *ABO* и *GC* [19]. Установлено, что у украинцев Белгородской области отмечается достоверное снижение частот аллелей *ABO*B* (0,12) и *GC*1S* (0,57) и повышение частоты аллеля *GC*2* (0,34) по сравнению с русским населением. При этом частоты практически всех изученных аллелей у украинцев находятся в пределах варьирования данных показателей у русского населения области [19].

Цапковой Л.А. [20], при проведении анализа распределения гаплогрупп Y-хромосомы среди коренных жителей (украинцы и русские) белгородской популяции установлено, что у русских встречаются 16 гаплогрупп: I1a, I1b, I1c, E, E3b1, D, R1a1, J, R1b3, J2, N3, R1, K2, N2, G, K, Q, у украинцев – 10 гаплогрупп E, E3b1, D, R1a1, R1, R1b3, I1a, I1b, N2, N3, J2. Отличия между этими двумя этническими группами Белгородской области получены по распределению гаплогруппы E3b1 (из 16 гаплогрупп Y хромосомы). Концентрация гаплогруппы E3b1 у украинского населения (11,32%) оказалась достоверно ($p < 0,001$) на порядок выше, чем у русского населения (1,14%). Сравнительный анализ распределения аллелей STR локусов Y-хромосомы показал, что русские и украинцы области достоверно отличаются друг от друга по частотам трех аллелей двух STR локусов Y-хромосомы.

Так концентрация аллелей *DYS19*14* у украинского населения области ниже ($p < 0,05$), а распространенность *DYS390*24* и *DYS19*13* выше ($p < 0,05-0,001$) по сравнению с русскими области.

Полученные нами результаты свидетельствуют, что одним из факторов установленной генетической изменчивости анализируемых популяций Белгородской области, выступает этническая принадлежность населения. Популяции с русским населением наиболее генетически близки, а украинские популяции в генетическом пространстве дифференцированы от них, что подтверждается и различными методами многомерной статистики (кластерный анализ, многомерное шкалирование, факторный анализ). Анализ генетических взаимоотношений исследуемых районов по данным об аутосомных ДНК-маркерах показал, что русское население Красненского и Прохоровского районов области сформировали самостоятельный кластер, а украинцы Грайворонского и Красногвардейского районов генетически удалены (рис.2) [17, 18]. Следует отметить, что аналогичные закономерности пространственной изменчивости генофонда белгородской популяции были получены нами ранее с использованием квазигенетических маркеров (фамилий) [23].



Рис. 2. Расположение в пространстве двух главных факторов районов Белгородской области с коренным русским и украинским населением (по данным аутосомных ДНК-маркеров)

Fig. 2. Location in space of the two main factors of areas of the Belgorod region with the indigenous Russian and Ukrainian population (according to autosomal DNA markers)

Несколько иные результаты по генетическим соотношениям этих же популяций Белгородской области получены Л.А. Цапковой [20] на основе данных о частотах 16 гаплогрупп Y-хромосомы. Автором выявлена дифференциация изучаемых районов на два кластера. Первый кластер сформирован Яковлевским и Прохоровским районами, второй - объединяет Красненский и Красногвардейский районы области (также имеют общую территориальную границу), отдельно от них расположен Грайворонский район (украинское население).

Следует отметить, что по всем трем типам генетических маркеров, русское население Белгородской области имеет минимальные генетические расстояния со «среднерусской» популяцией. Украинское население Белгородской области, как и «среднеукраинская» популяция генетически удалены от них [20].

Заключение. Таким образом, населения Центрально Черноземного региона РФ характеризуется гетерогенностью популяционно-генетической структуры, что обусловлено высокой миграционной активностью и как следствие разнородностью этнического состава. Таким образом, при формировании выборок для дальнейшего медико-генетического и генетико-эпидемиологического исследования населения необходимо учитывать место рождения супругов и национальность.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Изучение груза и разнообразия наследственных болезней среди русского населения Карачаево-черкесской республики / Р.А. Зинченко [и др.] // Генетика. 2018. Т. 17, N 7. С. 30-37. DOI: <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2018.07.30-37>
2. Медико-генетическое изучение наследственных болезней у абазин Карачаево-черкесской республики / Р.А. Зинченко [и др.] // Генетика. 2018. Т. 54. N 6. С. 677-687. DOI: 10.7868/S0016675818060097
3. Москаленко М.И. Вовлеченность генов матриксных металлопротеиназ в формирование артериальной гипертензии и ее осложнений (обзор) // Научный результат. Медицина и фармация. 2018. Т.4, N1. С.53-69. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-1-53-69.
4. rs3918242 MMP9 gene polymorphism is associated with myocardial infarction in Mexican patients / J.M. Rodríguez-Pérez [et al.] // Genet Mol Res. 2016. Vol. 15(1). DOI: 10.4238/gmr.15017776
5. The association of genetic variants of matrix metalloproteinases with abdominal aortic aneurysm: a systematic review and meta-analysis / D.R. Morris [et al.] // Heart. 2014. Vol. 100(4). P. 295-302. DOI: 10.1136/heartjnl-2013-304129
6. MMP-1 and -3 haplotype is associated with congenital anomalies of the kidney and urinary tract / T. Djuric [et al.] // Pediatr Nephrol. 2014. Vol. 29(5). P. 879-884. DOI: 10.1007/s00467-013-2699-x
7. Polymorphisms of matrix metalloproteinases in systolic heart failure: role on disease susceptibility, phenotypic characteristics, and prognosis / F.M. Velho [et al.] // J Card Fail. 2011. Vol. 17(2). P. 115-121. DOI: 10.1016/j.cardfail.2010.09.017
8. Genetic polymorphism of matrix metalloproteinase-1 and coronary artery disease susceptibility: a case-control study in a Han Chinese population / C. Qintao [et al.] // Genet Test Mol Biomarkers. 2014. Vol. 18(12). P. 826-831. DOI: 10.1089/gtmb.2014.0222
9. Common matrix metalloproteinase 2 gene haplotypes may modulate left ventricular remodeling in hypertensive patients / R. Lacchini [et al.] // J Hum Hypertens. 2012. Vol. 26(3). P. 171-177. DOI: 10.1038/jhh.2011.8
10. Genetic variants in matrix metalloproteinase-9 gene modify metalloproteinase-9 levels in black subjects / I.F. Metzger [et al.] // DNA Cell Biol. 2012. Vol. 31(4). P. 504-510. DOI: 10.1089/dna.2011.1388
11. Балановская Е.В., Балановский О.П. Русский генофонд на русской равнине. М.: Луч, 2007. 416 с.
12. Ельчинова Г.И. Опыт применения методов популяционно-генетического анализа при изучении популяций России с различной генетико-демографической структурой: автореф. дисс.... докт. биол. наук. М., ГУ МГНЦ РАМН, 2001. 48 с.
13. Популяционно-генетическая характеристика ногайцев Карачаево-черкессии (по данным о распределении фамилий и брачных миграциях) / Г.И. Ельчинова [и др.] // Вестник Московского университета. Серия 23: Антропология. 2016. N 1. С. 109-115.
14. Русские Карачаево-черкессии: популяционно-генетическое описание / Г.И. Ельчинова [и др.] // Генетика. 2018. Т. 54, N 9. С. 1099-1102.

15. Курбатова О.Л., Янковский Н.К. Миграция – основной фактор популяционной динамики городского населения России // Генетика. 2016. Т. 52, N 7. С. 831-851. DOI: 10.7868/S0016675816070067

16. Генофонд новгородцев: между севером и югом / Е.В. Балановская [и др.] // Генетика. 2017. Т. 53, N 11. С. 1338-1348. DOI: 10.7868/S0016675817110029

17. Рудых Н.А., Сиротина С.С. Генетические соотношения русских и украинских популяций Белгородской области // Научный результат. Серия: Медицина и фармация. 2015. Т.1, N 3(5). С. 72-79. DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-3-72-79

18. Рудых Н.А. Изучение структуры генофонда населения Белгородской области и его места в системе восточнославянского генофонда (по данным об аутосомном ДНК полиморфизме): автореф. дис. ... канд. биол. наук. Белгород, 2009, 16 с.

19. Лепендина И.Н. Генетическая структура Белгородской популяции и ее положение в системе восточнославянского генофонда (по данным об иммуно-биохимических генных маркерах): автореф. дис. ... канд. биол. наук. Белгород, 2005, 23 с.

20. Цапкова Л.А. Полиморфизм Y-хромосомы среди населения Белгородской области автореф. дис. ... канд. биол. наук. Белгород, 2008, 17 с.

21. Сорокина И.Н., Балановская Е.В., Чурносков М.И. Генофонд населения Белгородской области. I. Дифференциация всех районных популяций по данным антропоники // Генетика. 2007. Т. 43, N 6. С. 841-849.

22. Белгородстат [Электронный ресурс]. URL: <http://belg.gks.ru> (дата обращения: 9.10.2018)

23. Сорокина И.Н., Чурносков М.И., Балановская Е.В. Генофонд населения Белгородской области описание “генетического ландшафта” 22 районных популяций // Генетика. 2009. Т. 45, N 5. С. 700-710.

References

1. Zinchenko R.A., Kadyshev V.V., El'chinova G.I., et al. Study of the load and diversity of hereditary diseases among the Russian population of the Karachay-Cherkess Republic. Medical Genetics. 2018;17(7):30-37. Russian. DOI: <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2018.07.30-37>

2. Zinchenko R.A., Kadyshev V.V., Galkina V.A., et al. Medical Genetic Study of Hereditary Diseases in Abazins of the Karachay-Cherkess Re-

public. Russian Journal of Genetics. 2018;54(6):703-711. DOI: 10.7868/S0016675818060097

3. Moskalenko M.I. The involvement of genes of matrix metalloproteinases in the development of arterial hypertension and its complication (review). Research Result. Medicine and Pharmacy. 2018;4(1):53-69. Russian. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-1-53-69

4. Rodríguez-Pérez JM, Vargas-Alarcón G, Posadas-Sánchez R, et al. rs3918242 MMP9 gene polymorphism is associated with myocardial infarction in Mexican patients. Genet Mol Res. 2016; № 15(1). DOI: 10.4238/gmr.15017776

5. Morris DR, Biros E, Cronin O, et al. The association of genetic variants of matrix metalloproteinases with abdominal aortic aneurysm: a systematic review and meta-analysis. Heart. 2014;100(4):295-302. DOI: 10.1136/heartjnl-2013-304129

6. Djuric T, Zivkovic M, Milosevic B, et al. MMP-1 and -3 haplotype is associated with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. Pediatr Nephrol. 2014;29(5):879-884. DOI: 10.1007/s00467-013-2699-x

7. Velho FM, Cohen CR, Santos KG, et al. Polymorphisms of matrix metalloproteinases in systolic heart failure: role on disease susceptibility, phenotypic characteristics, and prognosis. J Card Fail. 2011;17(2):115-121. DOI: 10.1016/j.cardfail.2010.09.017

8. Quintao C, Yan L, Changhong D, et al. Genetic polymorphism of matrix metalloproteinase-1 and coronary artery disease susceptibility: a case-control study in a Han Chinese population. Genet Test Mol Biomarkers. 2014;18(12):826-831. DOI: 10.1089/gtmb.2014.0222

9. Lacchini R, Jacob-Ferreira AL, Luizon MR, et al. Common matrix metalloproteinase 2 gene haplotypes may modulate left ventricular remodelling in hypertensive patients. Hum Hypertens. 2012;26(3):171-177. DOI: 10.1038/jhh.2011.8

10. Metzger IF, Luizon MR, Lacchini R, et al. Genetic variants in matrix metalloproteinase-9 gene modify metalloproteinase-9 levels in black subjects / I.F. Metzger [et al.] // DNA Cell Biol. 2012;31(4):504-510. DOI: 10.1089/dna.2011.1388

11. Balanovskaya EV, Balanovsky OP. [Russian gene pool on the Russian plain]. M.: Luch; 2007. 416 p. Russian.

12. Elchinova GI. [Experience of using population-genetic analysis methods in studying populations of Russia with different genetic and demographic structure] [dissertation]. Moscow: GU MGNTS RAMN; 2001. Russian.

13.El'chinova GI, Revazova YuA, Makaov AKh-M, et al. Population and genetic characteristics of Nogais in Karachay-Cherkessia (by data about the surname distribution and marriage migration). Moscow University Bulletin. Series 23: Anthropology. 2016;1:109-115. Russian.

14.Elchinova GI, Bikanov RA, Petrin AN, et al. Russians of the Karachay-Cherkess Republic: population genetic portrait. Russian Journal of Genetics. 2018;54(9):1117-1119. Russian.

15.Kurbatova OL, Yankovsky NK. Migration as the main factor of the Russian urban population dynamics. Russian Journal of Genetics. 2016;52(7):726-745. Russian.

DOI: 10.7868/S0016675816070067

16.Balanovska EV, Agdzhoyan AT, Skhalyakho RA, et al. Gene pool of the Novgorod population: between the north and the south. Russian Journal of Genetics. 2017;53(11):1338-1348. Russian. DOI: 10.7868/S0016675817110029

17.Rudyh NA, Sirotina SS. Genetic interrelations of Russian and Ukrainian populations of the Belgorod region. Research Result. Medicine and Pharmacy. 2015;1(3(5)):72-79. Russian. DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-3-72-79

18.Rudykh NA. [Studying the structure of the gene pool of the population of the Belgorod region and its place in the East Slavic gene pool system (according to data on autosomal DNA polymorphism)] [dissertation]. Belgorod; 2009. Russian.

19.Lependina IN. [Genetic structure of the Belgorod population and its position in the system of the East Slavic gene pool (according to data on immuno-biochemical gene markers)] [dissertation]. Belgorod; 2005. Russian.

20.Tsapkova LA. [Polymorphism of the Y-chromosome among the population of the Belgorod region] [dissertation]. Belgorod; 2008. Russian.

21.Sorokina IN, Churnosov MI, Balanovska EV. The gene pool of the Belgorod region population: I. Differentiation of all district populations based on anthroponymic data. Russian Journal of Genetics. 2007;43(6):697-704. Russian.

22.[Belgorodstat] [Internet]. Place: Belgorod; [cited 2018 Oct 9]. Available from: <http://belg.gks.ru> Russian

23.Sorokina IN, Churnosov MI, Balanovska EV. The gene pool of the Belgorod region population: description of the "genetic landscape" of 22 district populations. Journal of Genetics. 2009;45(5):613-622. Russian.

Информация об авторах

Инна Николаевна Сорокина, доктор биологических наук, профессор кафедры медико-биологических дисциплин, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», E-mail: Sorokina@bsu.edu.ru, ORCID: W-1214-2017.

Наталья Александровна Рудых, кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических дисциплин, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», E-mail: rudyh@bsu.edu.ru.

Ирина Николаевна Безменова, кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических дисциплин, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», E-mail: lependina@bsu.edu.ru.

Ирина Сергеевна Полякова, кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических дисциплин, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», E-mail: polyakovairina@bsu.edu.ru.

Information about the authors

Inna N. Sorokina, Doctor of Biological Sciences, Professor, Department of Biomedical Sciences, Belgorod State National Research University, E-mail: Sorokina@bsu.edu.ru, ORCID: W-1214-2017.

Natalya A. Rudykh, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Biomedical Sciences, Belgorod State National Research University, E-mail: rudyh@bsu.edu.ru.

Irina N. Bezmenova, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Biomedical Sciences, Belgorod State National Research University, E-mail: lependina@bsu.edu.ru.

Irina S. Polyakova, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Biomedical Sciences, Belgorod State National Research University, E-mail: polyakovairina@bsu.edu.ru.

Статья поступила в редакцию 15 июня 2018 г.
Receipt date 2018 June 15.

Статья принята к публикации 4 сентября 2018 г.
Accepted for publication 2018 September 4.

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ PHARMACOLOGY, CLINICAL PHARMACOLOGY



УДК 615.225:615.453.2

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-4

Alexandra V.
Baskakova

Perspective materials for drug delivery in the ophthalmic dosage form:
a short review of polymers for electrospinning

Federal Budget Institution of Science "Central Research Institute of Epidemiology"
of the Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance
3A Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russia
Corresponding author: Alexandra V. Baskakova (aleksbaskakova@yandex.ru)

Информация для цитирования: Baskakova A.V. Perspective materials for drug delivery in the ophthalmic dosage form: a short review of polymers for electrospinning // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 4. С. 31-34. [Baskakova AV. Perspective materials for drug delivery in the ophthalmic dosage form: a short review of polymers for electrospinning. Research Results in Biomedicine. 2018;4(4):31-34]. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-4

Abstract

Background: The traditional ophthalmological dosage forms have a low bioavailability, a rapid precorneal clearance and a low corneal permeability. The gelling system or system with a prolonged action (prolonged eye-drops) may be overcome by the application of fibers. An innovative dosage form was described for ophthalmology and perspective drug development. The authors also conducted an overview of the polymers investigated in the production of films or tablets for oral dosage forms. The properties of fibers revealed fundamental differences from polymers. Combining different properties of pharmaceutical formulations appears to offer a synergy in bioavailability and sustained release with very comfortable conditions of use and prolonged action. Novel formulations, such as prolonged eye-drops and gels or thinnest films for the eye, will be developed and tested in vitro studies. This enhancement stipulates for perspective pharmaceutical development. **The aim of the study:** To describe the main types of fibers for the development of a potential ophthalmological dosage form. **Materials and methods:** The review of the articles with high CiteScore rating in Scopus and Web of Science. CiteScore is a simple way of measuring the citation impact of sources. Tasks: to describe suitable polymers for development of ocular dosage forms prepared by electrospinning. **Results:** The results of the review of the most useful polymers show that in most cases all polymers are used together. A huge number of ophthalmologic pathologies call for a correct approach to each nosology in each case. **Conclusion:** The electrospinning method will stipulate for the future development of customized tools for the treatment of ophthalmic pathologies. The development of an ophthalmic insert with the possible introduction of several medicinal substances depending on the condition of each patient is promising.

Keywords: nanofibers; electrospinning; ophthalmology; polymers; electrospun formulations; ocular formulation; PVP; PEO; PVA; CDs; PDS; Chitosan; Cellulose

Introduction. Most ocular drugs when given by topical administration are rapidly cleared by the aqueous humor flowing into the anterior chamber and flushing the drug out via the trabecular meshwork, should they permeate the cornea. The drug will often therefore fail to reach reproducible therapeutic levels near the retina. Unfortunately, drugs in solution can rapidly clear within hours from the posterior cavity upon IVT injection. This reduces efficacy and frequent injections are required, which can lead to undesirable side effects and reduce patient compliance [1]. Electrospinning is one of the techniques for production of different fibers for medical and pharmaceutical needs. This technique is being used to enhance the solubility substances in ophthalmology. We have conducted an overview of the polymers investigated in the production of films or tablets for oral dosage forms. Previous studies [1, 2] of electrospun formulations of acyclovir, ciprofloxacin and cyanocobalamin for ocular drug delivery demonstrate that electrospun matrices, such as those prepared in this work, have potential for use as intravitreal implants and improve the solubility of such a water-insoluble substance like acyclovir.

The **aim** of this review is to describe the main types of fibers for the development of a potential ophthalmological dosage form.

Tasks: to describe suitable polymers for the development of ocular dosage forms prepared by electrospinning.

Results and discussion. The traditional ophthalmological dosage forms have a low bioavailability, a rapid precorneal clearance, and a low corneal permeability. The gelling system or system with a prolonged action (prolonged eye-drops) may be overcome by the application of fibers.

Anatomy of the eye is demonstrated in close connection with ophthalmic delivery and bioavailability of drugs. Combining different properties of pharmaceutical formulations appears to offer a synergy in bioavailability and sustained release with very comfortable conditions of use and prolonged action. Novel formulations, such as prolonged eye-drops and gels or thinnest films for the eye, will be developed and tested in vitro studies.

Table demonstrates the most useful types of polymers in ophthalmology.

Table

The most useful types of polymers in ophthalmology

Name of polymer	Short name of polymer	Properties	Use
poly(ϵ -caprolactone)	PCL	Biodegradable thermoplastic polymer	Films, polymer for enhancing of the mechanical properties for engineered nanotopology of structures [3]
poly(ethylene oxide)	PEO	Relatively high molecular weight, biocompatible material that effectively improves the mechanical and biological properties of composite hydrogels	In combination with chitosan is used for high antimicrobial effect [4]
polyvinyl alcohol	PVA	Presents biocompatibility, being prepared easily and having non-toxic solvent; water-soluble synthetic polymer; biodegradable	Used for incorporate molecules of biological origin, such as collagens, hyaluron and deoxyribonucleic acid[5]

Cyclodextrins	CDs	Most versatile substances produced by nature	Gels for drug delivery
Polydioxanone	PDS	Material for tissue regeneration [6]	Biological matrix
Chitosan	Chitosan	Biodegradability, biocompatibility, it has fungicidal, antimicrobial, and antitumor activity and also has strong healing properties, as it offers an excellent environment for cell adhesion and proliferation[7]	Producing of membranes for regeneration
Cellulose	Cellulose	High molecular weight polysaccharide in nature;	Using for medical applications[8]

PCL is one of the most useful polymers in the medicine, but in ophthalmology, fibers were described in papers [1] and [9]. Both studies report on fibers with antimicrobial agents. Karataş A. et al develop ofloxacin loaded electrospun fibers for ocular drug delivery. The microbiological study of properties of this fibers shows that freely released ofloxacin from fibers inhibited the growth of the tested bacteria. This study demonstrates that electrospinning had no adverse effects on the activity of the incorporated drug in fibers. That data is interesting for future development of dosage forms with antimicrobial agents for ophthalmology.

Simões S.M. [10] describes syringeable self-assembled cyclodextrin gels for drug delivery: CDs were obtained in two systems to form inclusion complexes. Both types of complexes show stability with variety of drugs via interactions between substances and polymers. Functional groups of polymers are not involved in the other complexes. Other authors, Hu QD et al [11], describe the host-guest interactions of α CD and β CD between polymer and substances. They also report about modification of CDs with polymers due to the potential benefits rendered by cationic protection and improved capability. This modifications help to improve the controlled release by application of responsive structures.

Another benefit of using CDs for nanomedicine includes electrospun fibers of cyclodextrins and poly(cyclodextrins) [12]. They include therapeutic agents. These complexes

demonstrate a slow release that is the most suitable for a perspective ocular dosage form.

Cellulose fibers (HPMC in this studies) with polyethylene oxide PEO [13] were produced by Aydogdu A et al. A uniform structure of these fibers was achieved by increasing a polymer concentration, and their structure was semicrystalline. For next studies and combining PEO with HPMC the developments of uniform and stability fibers for ocular films may be interesting.

In the other studies of Kuang G et al, there were developed polyblend nanofibers for local cancer treatment [14]. PEO was included in the mixture of polymers as a hydrophilic polymer. This study will be used in a new concept of local chemotherapy.

Cellulose derivatives were prepared by incorporating polyaniline (PAN) fibers into polyvinyl alcohol (PVA) by Bai Y. [15]. These fibers are interesting for ophthalmological drug development because they show excellent water-, thermal-, and near-infrared (NIR) light-properties. Of course, the concentration of polymers should be changed for drug development.

Karczewski A. et al have developed an antimicrobial drug delivery system [16] with PDS fibers. Chitosan, as a more adequate stimulus to facilitate the cell, was used in these fibers. This fiber shows an antimicrobial activity against all bacteria and is cell-friendly. The experience in the use of these fibers have a potential for ophthalmology drug development.

The results of the review of the most useful polymers show that in most cases all polymers are used together. A huge number of ophthalmologic pathologies call for a correct approach to each nosology in each case. The electrospinning method will stipulate for the future development of customized tools for the treatment of ophthalmic pathologies. The development of an ophthalmic insert with the possible introduction of several medicinal substances depending on the condition of each patient is promising.

No conflict of interest was recorded with respect to this article.

References

1. Baskakova A, Awwad S, Jiménez JQ, et al. Electrospun formulations of acyclovir, ciprofloxacin and cyanocobalamin for ocular drug delivery. *Int J Pharm.* 2016 Apr 11;502(1-2):208-18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.02.015>
2. Meireles AB, Corrêa DK, da Silveira JV, et al. Trends in polymeric electrospun fibers and their use as oral biomaterials. *J Exp Biol Med (Maywood).* 2018 May;243(8):665-676. DOI: <https://doi.org/10.1177/1535370218770404>
3. Battistella E, Varoni E, Cochis A, et al. Degradable polymers may improve dental practice. *J Appl Biomater Biomech.* 2011;9:223-31. DOI: <https://doi.org/10.5301/JABB.2011.8867>
4. Xiao Y, Gong T, Jiang Y, et al. Fabrication and characterization of a glucose-sensitive antibacterial chitosan-polyethylene oxide hydrogel. *J Polymer.* 2016;82:1-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2015.11.016>
5. Kim GM, Asran AS, Michler GH, et al. Electrospun PVA/HAp nanocomposite nanofibers: biomimetics of mineralized hard tissues at a lower level of complexity. *J Bioinspir Biomim.* 2008;3:046003.
6. Bottino MC, Yassen GH, Platt JA, et al. A novel three dimensional scaffold for regenerative endodontics: materials and biological characterizations. *J Tissue Eng Regen Med.* 2015;9:116-23. DOI: <https://doi.org/10.1002/term.1712>
7. Furuya DC, Costa SA, Oliveira RC, et al. Fibers obtained from alginate, chitosan and hybrid used in the development of scaffolds. *J Mat Res.* 2017;20:377-86. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1980-5373-mr-2016-0509>
8. Ao C, Niu Y, Zhang X, et al. Fabrication and characterization of electrospun cellulose/nanohydroxyapatite nanofibers for bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol.* 2017;97:568-73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.12.091>
9. Karataş A, Algan AH, Pekel-Bayramgil N, et al. Ofloxacin Loaded Electrospun Fibers for Ocular Drug Delivery: Effect of Formulation Variables on Fiber Morphology and Drug Release. *J Curr Drug Deliv.* 2016;13(3):433-43.
10. Simões SM, Veiga F, Torres-Labandeira JJ, et al. Syringeable self-assembled cyclodextrin gels for drug delivery. *J Curr Top Med Chem.* 2014;14(4):494-509.
11. Hu QD, Tang GP, Chu PK. Cyclodextrin-based host-guest supramolecular nanoparticles for delivery: from design to applications. *Acc Chem Res.* 2014 Jul 15;47(7):2017-25. DOI: [10.1021/ar500055s](https://doi.org/10.1021/ar500055s)
12. Costoya A, Concheiro A, Alvarez-Lorenzo C. Electrospun Fibers of Cyclodextrins and Poly(cyclodextrins). *Molecules.* 2017 Feb 3;22(2).
13. Aydogdu A, Sumnu G, Sahin S. A novel electrospun hydroxypropyl methylcellulose/polyethylene oxide blend nanofibers: Morphology and physicochemical properties. *J Carbohydr Polym.* 2018 Feb 1;181:234-246. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.071>
14. Kuang G, Zhang Z, Liu S, et al. Biomater Sci. Biphasic drug release from electrospun polyblend nanofibers for optimized local cancer treatment. 2018 Jan 30;6(2):324-331. DOI: [10.1039/C7BM01018D](https://doi.org/10.1039/C7BM01018D)
15. Bai Y, Zhang J, Chen X. A Thermal-, Water-, and Near-Infrared Light-Induced Shape Memory Composite Based on Polyvinyl Alcohol and Polyaniline Fibers *ACS Appl Mater Interfaces.* 2018 Apr 25;10(16):14017-14025. DOI: [10.1021/acsami.8b01425](https://doi.org/10.1021/acsami.8b01425)
16. Karczewski A, Feitosa SA, Hamer EI, et al. Clindamycin-modified Triple Antibiotic Nanofibers: A Stain-free Antimicrobial Intracanal Drug Delivery System. *J Endod.* 2018 Jan;44(1):155-162. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.08.024>

Information about the author

Alexandra V. Baskakova, Candidate of Pharmaceutical Sciences, coordinator of R&D projects, FBIS "Central Research Institute of Epidemiology" of the Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance. E-mail: aleksbaskakova@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 30 мая 2018 г.
Receipt date 2018 May 30.

Статья принята к публикации 2 сентября 2018 г.
Accepted for publication 2018 September 2.



УДК: [616.37-002.1-092.9 : 616-099 : 547.261]-085

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-5

О.Н. Бушмина,
А.Л. Локтионов,
С.А. Долгарева,
А.И. Конопля

**Фармакологическая коррекция метаболических нарушений
при экспериментальном остром панкреатите на фоне
хронической алкогольной интоксикации**

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»,
ул. К. Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Российская Федерация
Автор для переписки: О.Н. Бушмина (o.buschmina@yandex.ru)

Информация для цитирования: Фармакологическая коррекция метаболических нарушений при экспериментальном остром панкреатите на фоне хронической алкогольной интоксикации / О.Н. Бушмина [и др.] // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 4. С. 35-51. [Bushmina ON, Loktionov AL, Dolgareva SA, et al. Pharmacological correction of metabolic disturbances in experimental acute pancreatitis on the background of chronic alcohol intoxication. Research Results in Biomedicine. 2018;4(4):35-51 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-5

Аннотация

Актуальность: Острый панкреатит занимает третье место среди всех острых хирургических заболеваний органов брюшной полости и представляет собой одну из важных нерешённых проблем в неотложной хирургии. **Цель исследования:** установить особенности иммунометаболических изменений при остром панкреатите при кратковременной и хронической интоксикации этанолом, разработать способы фармакологической коррекции выявленных нарушений. **Материалы и методы:** Эксперимент включил 377 половозрелых крыс линии Wistar. Алкогольную интоксикацию моделировали путем интрагастрального введения 20% раствора спирта этилового в дозе 3 мл/кг через 24 часа в течение 5 суток. При хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) спирт давали животным в течение 30 суток (ХАИ-30) или 60 суток (ХАИ-60). Моделирование острого панкреатита осуществляли по Wang R.N. в модификации С.А. Алехина (2006) путем лигирования протока левой и правой доли поджелудочной железы и стимуляцией прозеринем троично через каждые 60 мин. **Результаты:** Кратковременная интоксикация в течение 5 суток спиртом этиловым у крыс приводит к незначительным метаболическим изменениям реактивного характера, 30-дневное, а еще в большей степени, 60-дневное его введение, – к развитию токсического поражения печени, окислительному стрессу, дисбалансу формирования адаптивного и врожденного иммунного ответа, изменениям функционально-метаболической активности циркулирующих эритроцитов. В условиях острого деструктивного панкреатита (ОДП) на фоне 30-дневной интоксикации спиртом этиловым оказались нарушенными 97,1% исследованных лабораторных показателей. Введение фосфогилива, гепона и гипоксена нормализовало 12,1% измененных

метаболических показателей, корректировало 60,6% и не изменяло 27,3%. Комбинация гептрала, глутоксима и мексидола оказалась более эффективной, поскольку корригировала 42,4% и нормализовала 57,8% исследованных параметров иммунометаболического статуса. В условиях интоксикации этанолом в течение 60 дней оказались нарушенными 100% лабораторных показателей. Введение фосфоглива, гипоксена и гепона корректировало из них 38,2% и приводило к норме 11,8%. Сочетание гептрала, глутоксима и мексидола корригировало 67,6% и нормализовало 17,6% исследуемых показателей. **Заключение:** При оценке собственных корригирующих эффектов при ОДП на фоне 30- и 60-дневной алкогольной интоксикации сочетание гептрала, глутоксима и мексидола (84 и 37 баллов соответственно) оказалась более предпочтительней чем фосфоглива, гипоксена и гепона (46 и 15 баллов соответственно).

Ключевые слова: алкогольная интоксикация; метаболические нарушения; фармакологическая коррекция

Olga N. Bushmina,
Alexey L. Loktionov,
Svetlana A. Dolgareva,
Alexandr I. Konoplya

**Pharmacological correction of metabolic disturbances
in experimental acute pancreatitis on the background
of chronic alcohol intoxication**

Kursk State Medical University,
3 K. Marx St., Kursk, 305041, Russia

Corresponding author: Olga N. Bushmina (o.buschmina@yandex.ru)

Abstract

Background: Acute pancreatitis ranks third among all acute surgical diseases of the abdominal cavity and is one of the important unresolved problems in emergency surgery. **The aim of the study:** to establish the features of immunometabolic changes in acute pancreatitis with short-term and chronic ethanol intoxication, to develop ways of pharmacological correction of the revealed disorders. **Materials and methods:** The studies were conducted on 377 healthy sexually mature Wistar rats. Alcoholic intoxication was modeled by intragastric injection of 20% ethanol solution at a dose of 3 ml/kg after 24 hours for 5 days. In chronic alcohol intoxication (CAI) ethanol was injected for 30 or 60 days (CAI-30, CAI-60). Acute pancreatitis was modeled (R.N. Wang) in the modification of A.S. Alekhin (2006) by ligating the duct of the left and right lobes of the pancreas and stimulating the prozerin three times every 60 min. **Results:** Short-term intoxication (5 days) with ethanol causes minor metabolic changes of reactive nature, 30-day, more than 60-day injection, leads to the development of toxic liver damage, oxidative stress, imbalance in the formation of adaptive and innate immune response, disorders of functional and metabolic activity of circulating red blood cells. In the conditions of acute destructive pancreatitis (ADP) on the background of 30-day alcohol intoxication 97.1% of the laboratory parameters were violated. Injection of Phosphogliv, Hypoxene and Hepon normalized 12.1% of altered metabolic parameters, corrected – 60.6% and did not affect – 27.3%. The combination of Heptral, Glutoxim and Mexidol was more effective because it corrected 42.4% and normalized 57.8% of the studied parameters of immunometabolic

status. In the conditions of ethanol intoxication within 60 days in acute pancreatitis, 100% of laboratory parameters were violated. Injection of Phosphogliv, Hypoxene and Hepon corrected 38.2% and normalized 11.8%. The combination of Heptral, Glutxim and Mexidol corrected 67.6% and normalized 17.6% of the studied parameters. **Conclusion:** The combination of Heptral, Glutxim and Mexidol (84 and 37 points, respectively) was more preferable than Phosphogliv, Hypoxene and Hepon (46 and 15 points, respectively) in the assessment of their own corrective effects in EDP on the background of 30 - and 60-day alcohol intoxication.

Keywords: alcohol intoxication; metabolic disorders; pharmacological correction

Введение. Интоксикация этанолом, хронический алкоголизм и связанные с ними заболевания являются важнейшими медико-социальными проблемами. Панкреато-билиарная система наиболее чувствительна к действию алкоголя, который является одним из ведущих этиологических факторов в развитии ее заболеваний [1, 2].

В различных исследованиях установлено, что длительный прием алкоголя и/или возникновение острого панкреатита приводит к супрессии защитных иммунных механизмов, снижению способности организма противостоять микробной агрессии, повышению возникновения гнойно-некротических осложнений, резкому замедлению процессов репаративной регенерации [3, 4, 5, 6].

Одними из ведущих патогенетических механизмов развития болезней, основу которых составляет воспаление, является оксидантный стресс, избыточное накопление активных форм кислорода, снижение факторов антиоксидантной защиты. При деструктивных формах острого панкреатита на фоне окислительного стресса темпы восстановления недостаточны, вследствие этого в организме накапливаются поврежденные молекулы, изменяющие состояние регуляторных систем, в том числе иммунной [7, 8, 9].

В регуляции функции иммунной системы участвуют эритроциты, среди функций которых, помимо газотранспортной, является обеспечение иммунного гомеостаза, в том числе и при болезнях печени и поджелудочной железы [4, 8, 10].

При возникновении острого панкреатита наличие фоновых заболеваний, таких как, хроническая алкогольная интоксикация, сахарный диабет всегда оказывает отрицательное влияние на течение основного заболевания, что обосновывает многокомпонентную фармакологическую коррекцию нарушений в сочетании с хирургическими методами лечения [11, 12, 13].

Поджелудочная железа, головной мозг, печень, иммунная система и эритроциты являются основными мишенями воздействия этанола или метаболитов, появляющихся в крови при остром панкреатите, после чего выявляются значительные нарушения соответствующих параметров гомеостаза. Наличие острого панкреатита или длительная интоксикация этанолом изолированно, либо совместно индуцируют развитие вторичного иммунодефицитного состояния, активацию перекисного окисления липидов, изменение структурно-функциональных параметров эритроцитов, дезрегуляцию метаболизма, нарушение регенерации тканей [14, 15].

В настоящее время вопросы о состоянии свободно-радикального окисления, факторов антиоксидантной защиты, иммунного гомеостаза при длительной алкогольной интоксикации, метаболических и иммунных нарушений при остром панкреатите на фоне хронического злоупотребления алкоголем требуют дальнейших экспериментальных и клинических исследований.

В связи с изложенным, очевидна целесообразность дальнейшего изучения патогенетических проблем острого панкреатита на фоне хронической алкогольной интоксика-

ции и клинического изучения небилиарного (алкогольного) панкреатита, что даст основу для разработки и внедрения новых методов фармакологической реабилитации. При этом, основу фармакологической коррекции нарушений гомеостаза при остром панкреатите с предшествующим алкогольным анамнезом, несомненно, должны играть иммуностропные и гепатопротекторные препараты [2, 4, 5, 16, 17].

Цель исследования – установить особенности иммунометаболических изменений при остром панкреатите при кратковременной и хронической интоксикации этанолом, разработать способы фармакологической коррекции выявленных нарушений.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проводились на 377 половозрелых крысах линии Wistar массой от 150 до 200 г. Исследования проходили с 8.00 до 12.00, содержание и выведение животных из эксперимента проводили с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986), и согласно правилам лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.).

В эксперимент вошли группы животных: 1 группа – здоровые крысы (12 шт.), 2 группа – получавшие этанол 5 дней (11 шт.), 3 группа – модель ОДП при введении этанола в течение 5 дней (11 шт.), 4 группа – этанол, 30 дней (12 шт.), 5 группа – ОДП на фоне введения этанола в течение 30 дней (12 шт.), 6 группа – ОДП на фоне введения этанола в течение 30 дней и гепона, гипоксена и фосфоглива (11 шт.), 7 группа – ОДП на фоне введения этанола в течение 30 дней и глутоксида, мексидола и гептрала (12 шт.), 8 группа – этанол, 60 дней (12 шт.), 9 группа – ОДП на фоне введения этанола в течение 60 дней (12 шт.), 10 группа – ОДП на фоне введения этанола в течение 60 дней

и гепона, гипоксена и фосфоглива (12 шт.), 11 группа – ОДП на фоне введения этанола в течение 60 дней и глутоксида, мексидола и гептрала (11 шт.).

Алкогольную интоксикацию моделировали путем интрагастрального введения 20% раствора этилового спирта в дозе 3 мл/кг каждые 24 часа в течение 5 суток. При ХАИ спирт этиловый вводили в течение 30 или 60 суток.

Модель ОДП воспроизводили по Wang R.N. в модификации Алехина С.А. (2006) путем лигирования протока левой и правой доли панкреаса и прозергиновой стимуляцией трехкратно через каждые 60 мин. На первые сутки после моделирования патологии при гистологическом исследовании определяется отек панкреаса, выражены очаги центробилярных некрозов с умеренно выраженной нейтрофильной инфильтрацией некротических очагов и стромы поджелудочной железы. Моделирование ОДП производили сразу с кратковременным получением спирта этилового или на 25-е и 55-е сутки после его длительного введения.

Для гистологического подтверждения формирования моделируемых патологических изменений и оценки эффективности препаратов проведено гистологическое исследование печени и поджелудочной железы. Для этого кусочки исследуемых органов фиксировали в 10% формалине на 0,1 М фосфатном буфере (рН=7,2) и заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 7-10 мкм окрашивали гематоксилином Рого и эозином.

Дозировки, способы и кратность введения фармакологических препаратов представлен в таблице 1. Расчет доз фармакологических агентов для введения лабораторным крысам производили, используя коэффициенты пересчета доз, в зависимости от массы тела животного, либо эмпирически, основываясь на LD₅₀.

Таблица 1

Дозы, пути и кратность введения препаратов крысам с моделью острого деструктивного панкреатита

Table 1

Dosage, methods and frequency of drug injection to rats with the experimental model of acute destructive pancreatitis

Препарат	Путь введения	Разовая доза, мг/кг	Схема введения	
			Количество введений	Интервал между введениями, ч
Гепон (Thr-Glu-Lys-Lys-Arg-Arg-Glu-Thr-Val-Glu-Arg-Glu-Lys-Glu) (ООО "ИММА-ФАРМА", РФ)	перорально	5	14	24
Гипоксен (поли-(2,5-дигидроксифенилен)-4-тиосульфат натрия) (ООО "ОЛИФЕН", РФ)	перорально в 1% крахмальной суспензии	750	14	24
Фосфоглив (фосфотидинхонлин+тринатриевая соль глицеридной кислоты) (ОАО "Фармстандарт-Уфимский витаминный завод", РФ)	перорально в 1% крахмальной суспензии	800	14	24
Глутоксим (бис-(гамма-L-глутамил)-L-цистеинил-бис-глицин динатриевая соль) (ЗАО "ФАРМА ВАР", РФ)	внутримышечно	20	5	24
Мексидол (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат) (ЗАО «АЛ-СИ-Фарма», РФ)	внутрибрюшинно	50	14	24
Гептрал (S-Аденозил-L-метионина 1,4-бутандисульфат) (Хоспира С.п.А., Виа Фоссе Ардеатине, 2-20060 Лискате (МИ), Италия)	внутрибрюшинно	760	5	24

Выведение животных осуществляли через 24 часа после последнего введения спирта этилового или спирта и препаратов.

Забор крови у крыс осуществлялся под общей анестезией, путем внутрисердечной инъекции. Плазму получали из гепаринизированной крови путем центрифугирования в течение 5 мин при 400g. При оценке функционального состояния гепатоцитов в плазме определяли активность энзимов: аспартат- и аланинаминотрансфераз (АСТ, АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), гаммаглутаминтранспептидазы (ГГТ), а также содержание билирубина стандартными методами клинической биохимии на автоматическом биохимическом анализаторе «COBAS c311»

(Roche, Германия) реагентами Analyticon® Biotechnologies AG (Германия). Протромбиновый индекс (ПТИ) определяли клоттинговым методом на полуавтоматическом анализаторе показателей гемостаза «Start 4» (Stago, Франция) с применением реагентов «Human» (Германия). Концентрацию фибриногена определяли клоттинговым методом по Клаусс на полуавтоматическом анализаторе показателей гемостаза «Start 4» (Stago, Франция) с применением реагентов Diagnostica Stago (Франция).

Интенсивность протекания процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по уровню в плазме ацилгидропероксидов (АГП) и малонового диальдегида

(МДА). При оценке состояния антиоксидантной системы определяли активность супероксиддисмутазы (СОД) «Bender Medsystems» (Австрия) и каталазы «Cayman Chemical» (США) с использованием готовых коммерческих наборов. Общую антиокислительную активность (ОАА), определяли методом, базирующимся на ингибировании аскорбат- и ферроиндуцированного окисления твина-80 до МДА. Уровень конечных метаболитов NO (CM_{ON}) по реакции Грисса с использованием набора для твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) фирмы «R&D» (Англия). Регистрация всех результатов ИФА проводилась с применением микропланшетного фотометра «Sunrise», Tecan (Австрия).

Для формирования гуморального иммунного ответа (ГИО) антиген эритроциты барана вводили интраперитонеально один раз. ГИО оценивали на 5 день после иммунизации при определении в селезенке числа антителообразующих клеток (Мальберг К., Зигль Э., 1987). Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) моделировали интраперитонеальным введением 10^8 эритроцитов барана в 0,5 мл 0,15 моль/л раствора хлористого натрия. Через 4 дня в подушечку стопы правой лапки крысы вводили 10^6 ЭБ в 0,1 мл 0,15 моль/л раствора хлористого натрия (разрешающая доза). Спустя сутки выделяли регионарный и контрлатеральный подколенный лимфатические узлы. О выраженности ГЗТ судили по разнице масс регионарного и контрлатерального лимфоузлов и по разнице в числе кариоцитов.

Выделение нейтрофилов из полученной крови проводили на градиенте плотности фиколл-урографина ($\rho=1,078$). Их фагоцитарную активность определяли по стандартной методике, оценивая фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число (ФЧ) и индекс активности фагоцитоза (ИАФ). Активность кислород-зависимых систем нейтрофилов оценивали спектрофотометрически по НСТ-тесту, спонтанного и стимулированного зимозаном (НСТ-ст. н/з),

(НСТ-ст. о/з), с расчетом функционального резерва [18].

Подсчет общего числа эритроцитов, содержание гемоглобина в полученной крови проводили на автоматическом гематологическом анализаторе «ХР 300» (Sysmex, Германия). Эритроциты получали из гепаринизированной крови, после ее центрифугирования при 400g и отделения плазмы крови.

Определяли общую сорбционную способность эритроцитов, обусловленную наружной архитектурой мембраны и сорбционную емкость гликокаликса эритроцитов¹.

Статистическая обработка данных проводили по критериям вариационно-статистического анализа с вычислением средних величин (M), ошибки средней арифметической (m) с помощью программы Microsoft Excel, 2010. Существенность различий оценивали по Т-критерию. Статистически достоверными считали различия с $p<0,05$. Степень расстройств лабораторных показателей, их изменения под влиянием фармакологических средств, рейтинговый алгоритм лабораторных показателей, сумму степеней коррекции иммунометаболических показателей определяли по формулам А.М. Земскова.

Результаты и их обсуждение. У крыс с 5-кратным введением спирта этилового обнаружено только повышение активности АСТ и коэффициента де Ритиса за счет этого энзима. У животных с ОДП при 5-дневной алкогольной интоксикации выявлено увеличение содержания билирубина, активности АСТ, АЛТ, ЩФ, ГГТ и коэффициента де Ритиса, понижение уровня фибриногена, повышение ПТИ (таблица 2).

¹ **Примечание.** Определение иммунологических и биохимических показателей проведено в лаборатории иммуноферментного анализа НИИ экологической медицины Курского государственного медицинского университета и клинической лаборатории МУЗ ГКБ № 4 г. Курска, за что выражаем сотрудникам соответствующих подразделений глубокую признательность.

Таблица 2

Функциональная активность гепатоцитов при остром деструктивном панкреатите на фоне кратковременного введения этанола (М+m)

Table 2

Functional activity of hepatocytes in acute destructive pancreatitis in short-term injection of ethanol (M+m)

№ п/п	Показатели	Единицы измерения	1	2	3
			Контроль	Этанол – 5 дней	ОДП+этанол 5 дней
1	АСТ	Е/л	21,3±1,6	26,1±2,1 ^{*1}	33,8±3,2 ^{*1,2}
2	АЛТ	Е/л	20,1±2,4	19,6±1,4	27,7±2,2 ^{*1,2}
3	Коэффициент де Ритиса	АСТ/АЛТ	1,06±0,02	1,3±0,05 ^{*1}	1,2±0,06 ^{*1}
4	ЩФ	Е/л	249,2±18,8	261,4±12,5	345,8±10,4 ^{*1,2}
5	ГГТ	Е/л	4,8±0,22	5,1±1,0	7,1±1,4 ^{*1,2}
6	Коэффициент ГГТ/АСТ	ГГТ/АСТ	0,23±0,01	0,2±0,02	0,21±0,01
7	Билирубин	мкмоль/л	5,74±1,2	5,9±0,9	7,7±1,4 ^{*1,2}
8	ПТИ	%	60,1±1,6	62,7±2,4	70,1±3,1 ^{*1,2}
9	Фибриноген	г/л	3,12±0,09	3,3±0,2	2,84±0,1 ^{*1,2}

Примечание: на этой и последующих таблицах «*» отмечены статистически достоверные отличия средних арифметических ($p = 0,05$); цифры рядом с «*» – по отношению к показателям какой экспериментальной группы даны эти различия.

Note: on this and subsequent tables «*» there are statistically significant differences in arithmetic means ($p = 0.05$); the numbers next to «*» - in relation to the indicators of which experimental group these differences are given.

Введение этанола в течение 30 дней повысило ПТИ, активность АСТ, АЛТ, ГГТ, концентрацию билирубина, снизило содержание фибриногена и соотношение АСТ/АЛТ (рис. 1).

У животных с ОДП с 30-дневной интоксикацией этиловым спиртом было отмечено большее увеличение активности АЛТ, билирубина, ЩФ и ГГТ, уменьшение коэффициента де Ритиса, увеличение ГГТ/АСТ при сохранении на одном уровне синдрома недостаточности синтетических процессов (снижение уровня фибриногена) и активация свертывающей системы крови (повышение ПТИ) (рис. 1)

60-дневная интоксикация спиртом по сравнению с 30-дневной больше повышала активность АСТ, ЩФ, ГГТ, коэффициенты де Ритиса и ГГТ/АСТ, содержание билирубина. В тоже время при ХАИ-60 нормализовалась концентрация фибриногена и снижалось ПТИ, но не значений контроля (рис. 1). У крыс с ОДП при ХАИ-60 по сравнению с

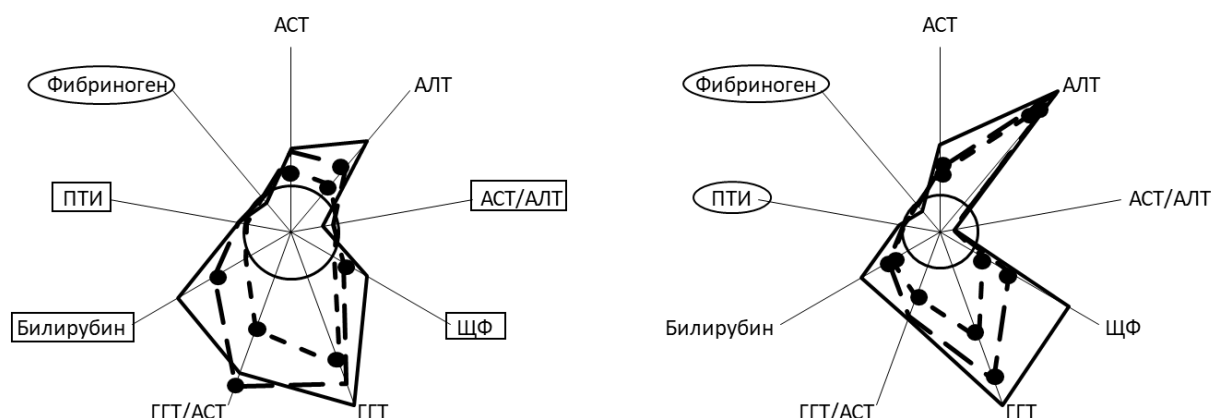
тем же временным введением только спирта или ОДП при ХАИ-30, повышалась активность АЛТ, АСТ, ЩФ, снижались коэффициенты ферментативной активности и содержание фибриногена (рис. 1).

При ОДП в условиях ХАИ-60 установлено, что сочетание гепона, гипоксена и фосфоглива нормализовало ПТИ и уровень фибриногена, корректировало, но не до показателей здоровых животных, активность АСТ, АЛТ, ЩФ, ГГТ и концентрацию билирубина (рис. 1).

Композиция глутоксима, мексидола и гептрала, по сравнению с предыдущим сочетанием препаратов, дополнительно корректировало активность ЩФ, ГГТ и коэффициент ГГТ/АСТ (рис. 1). Полученные результаты позволяют заключить, что у лабораторных крыс с ОДП при алкогольной интоксикации наблюдается развитие основных биохимических изменений поражения печени.

ХАИ 30 дней + ОДП

ХАИ 60 дней + ОДП



Обозначения:

- 1 – радиус окружности показатели интактных животных;
- 2 – ————— – показатели крыс с 30- и 60-дневной ХАИ + ОДП;
- 3 – — — — — – показатели крыс с 30- и 60-дневной ХАИ + ОДП + гепон, гипоксен и фосфоглив;
- 4 – – показатели крыс с 30- и 60-дневной ХАИ + ОДП + глутоксим, мексидол и гептрал;
- 5 – ● – скорректированный показатель ($p < 0,05$);
- 6 – ○ – показатель, нормализованный сочетанием гепон, гипоксен, фосфоглив ($p > 0,05$);
- 7 – □ – показатель, нормализованный сочетанием глутоксим, мексидол, гептрал ($p > 0,05$).

Legend:

- 1 – radius of a circle indicators of intact animals;
- 2 – ————— – indicators of rats with 30- and 60-day HAI + CCT;
- 3 – — — — — indicators of rats with 30- and 60-day HAI + ODP + gepon, hypoxen and phosphogliv;
- 4 – – indicators of rats with 30- and 60-day HAI + ODP + glutoxim, mexidol and heptal;
- 5 – ● – corrected indicator ($p < 0.05$);
- 6 – ○ – indicator, normalized by the combination of gepon, hypoxen, phosphoglive ($p > 0.05$);
- 7 – □ – indicator normalized by the combination of glutoxim, mexidol, heptal ($p > 0.05$).

Рис. 1. Фармакологическая коррекция нарушений функциональной активности гепатоцитов при моделировании ОДП на фоне 30- и 60-дневного введения спирта этилового

Fig. 1. Pharmacological correction of impaired functional activity of hepatocytes in the simulation of acute destructive pancreatitis on the background of 30- and 60-day injection of ethyl alcohol

В данных условиях применение фармакологических агентов с иммуномодулирующим, антиоксидантным и мембранопротекторным действием оказалось эффективным.

Кратковременное поступление этанола снижает фагоцитарную активность (снижение ФП, ФЧ, ИАФ) при одновременном повышении кислородзависимого метаболизма нейтрофилов периферической крови в НСТ-

тестах спонтанном и стимулированном неопсонизированным зимозаном. По сравнению со здоровыми крысами, уменьшались коэффициент активности на неопсонизированный зимозан (Кан) и коэффициент активности на опсонизированный зимозан (КАо).

У крыс с ОДП при кратковременной интоксикации этанолом еще больше умень-

шалась фагоцитарная активность и увеличивалась кислородзависимая метаболическая гранулоцитарная активность. А также снижались все резервы функциональной активности клеток.

Симуляция хронической интоксикации путем 30-дневного интрагастрального введения этанола в одинаковой степени по сравнению с группой, получавшей токсический агент в течение 60 суток, угнетало фагоцитарную и стимулировало кислородзависимую активность нейтрофилов перифери-

ческой крови. Показатель НСТ-ст. о/з в этих экспериментальных группах не отличался от значений группы контроля (табл. 3).

При ОДП и ХАИ-30, еще более при ХАИ-60, наблюдалось явное снижение ФП, ФЧ, ИАФ и увеличение НСТ-ст. о/з и н/з, НСТ-сп. Резервы кислородзависимой фагоцитарной активности у крыс (КАо, КАН и КО), подвергавшихся хронической интоксикации алкоголем, в том числе в комбинации с острым панкреатитом, оказались сниженными (табл. 3).

Таблица 3

Функционально-метаболическая активность циркулирующих нейтрофилов при моделировании острого деструктивного панкреатита при 30- и 60-дневной хронической интоксикации этанолом (М+m)

Table 3

Functional metabolic activity of circulating neutrophils in the simulation of acute destructive pancreatitis in 30- and 60-day chronic toxicity with ethanol (M + m)

№ п/п	Показатели	Единицы измерения	1 Кон- троль	2 ОДП + эта- нол	3 Гепон + ги- поксен + фосфоглив	4 Глутоксим+ мек- сидол+гептрал
30-дневная хроническая интоксикация этанолом и экспериментальный ОДП						
1	ФЧ	абс.	2,8±0,1	2,2±0,08 ^{*1}	2,48±0,08 ^{*1,2}	2,9±0,17 ^{*2,3}
2	ФП	%	77,2±1,6	37,3±2,2 ^{*1}	47,0±4,08 ^{*1,2}	66,3±3,4 ^{*1-3}
3	ИАФ	—	2,2±0,09	0,8±0,08 ^{*1}	1,57±0,1 ^{*1,2}	1,91±0,03 ^{*1-3}
4	НСТ-сп.	mOD	0,8±0,02	1,9±0,09 ^{*1}	1,67±0,09 ^{*1,2}	1,05±0,05 ^{*1-3}
5	НСТ-ст. н/з	mOD	1,3±0,02	2,0±0,15 ^{*1}	1,72±0,05 ^{*1,2}	1,32±0,03 ^{*2,3}
6	НСТ-ст. о/з	mOD	1,6±0,03	2,2±0,12 ^{*1}	1,77±0,08 ^{*1,2}	1,58±0,03 ^{*2,3}
7	КО	—	1,2±0,04	1,1±0,02 ^{*1}	1,05±0,02 ^{*1,2}	1,27±0,04 ^{*2,3}
8	КАо	—	2,0±0,06	1,07±0,09 ^{*1}	1,033±0,08 ^{*1}	1,62±0,04 ^{*1-3}
9	КАн	—	1,6±0,05	1,15±0,09 ^{*1}	1,08±0,04 ^{*1,2}	1,56±0,07 ^{*2,3}
60-дневная хроническая интоксикация этанолом и экспериментальный ОДП						
1	НСТ-сп.	mOD	0,8±0,02	1,95±0,03 ^{*1}	2,0±0,02 ^{*1}	1,7±0,06 ^{*1-3}
2	НСТ-ст. н/з	mOD	1,3±0,02	2,2±0,06 ^{*1}	2,1±0,05 ^{*1}	1,8±0,02 ^{*1-3}
3	НСТ-ст. о/з	mOD	1,6±0,03	2,1±0,2 ^{*1}	2,24±0,1 ^{*1}	1,12±0,05 ^{*1-3}
4	КО	—	1,2±0,04	0,96±0,07 ^{*1}	1,07±0,12 ^{*1}	0,86±0,09 ^{*1}
5	КАо	—	2,0±0,06	1,14±0,02 ^{*1}	1,12±0,03 ^{*1}	1,11±0,02 ^{*1}
6	КАн	—	1,6±0,05	1,1±0,04 ^{*1}	1,05±0,03 ^{*1}	1,1±0,06 ^{*1}
7	ФЧ	абс.	2,8±0,1	1,9±0,3 ^{*1}	2,1±0,1 ^{*1}	2,4±0,2 ^{*1}
8	ФП	%	77,2±1,6	34,3±0,9 ^{*1}	35,4±2,7 ^{*1}	45,0±3,4 ^{*1-3}
9	ИАФ	—	2,2±0,09	0,7±0,1 ^{*1}	0,74±0,04 ^{*1}	1,1±0,02 ^{*1-3}

Так как максимально выраженные изменения функционально-метаболической активности (ФМА) циркулирующих нейтрофилов наблюдались при ХАИ-30, ХАИ-60 без и в комбинации с моделью

ОДП, актуальной явилась разработка подходов фармакологической коррекции на примере данных экспериментальных групп.

Сочетание гепона, гипоксена и фосфоглива при ОДП на фоне ХАИ-30 корректи-

ровало, не достигая нормального уровня ФП, ФЧ, ИАФ, НСТ-сп., НСТ-ст. о/з и н/з, в еще более выраженной степени снижало функциональные резервы КО, Кан. Введение животным с моделью ОДП при ХАИ-30 комплекса глутоксим, мексидол и гептрал нормализовало ФЧ, НСТ-ст. о/з и н/з, Кан, КО и корректировало, но не достигая уровня нормы ФП, ИАФ, НСТ-сп., КАо (табл. 3).

Сочетание гепон, гипоксен и фосфоглив у крыс с ОДП при ХАИ-60 не привело к изменениям всех показателей ФМА нейтрофилов, по сравнению с группой животных без коррекции. При экспериментальном ОДП на ХАИ-60 применение комбинации глутоксим, мексидол и гептрал корректировало фагоцитарную активность полиморфноядерных лейкоцитов, НСТ-сп. и НСТ-ст. о/з и н/з, но не влияло на сниженные ФЧ, КАо, КО, Кан (табл. 3).

При ХАИ-30 выявлена стимуляция ГЗТ, при отсутствии изменений со стороны ГИО на ЭБ. При 60-дневном введении этанола установлена супрессия формирования и клеточной и гуморальной форм иммунного ответа, о чем свидетельствовало снижение иммунных АОК в селезенке, а также РМ и РК. При экспериментальном деструктивном панкреатите в условиях ХАИ-30, в большей степени при ХАИ-60, установлено по сравнению с контролем и животными, получавшими только этанол, выраженное ингибирование ГИО и ГЗТ на ЭБ.

Введение комплекса препаратов гипоксен, гепон и фосфоглив животным с ОДП в сочетании с 30-дневной ХАИ корректировало, но не достигая нормы, формирование адаптивного иммунитета. Использование сочетания глутоксима, мексидола и гептрала нормализовало число иммунных АОК в селезенке экспериментальных животных, корректировало, но до контрольной группы РМ и РК.

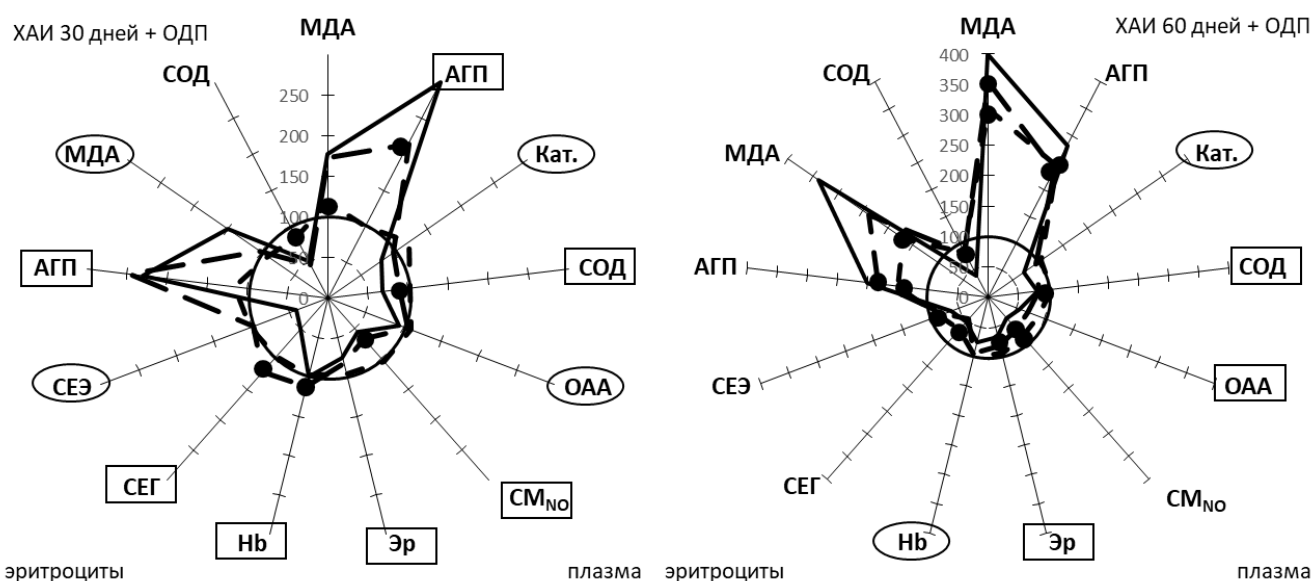
Использование гепона, гипоксена и фосфоглива в условиях ОДП и ХАИ-60 ча-

стично корректировало показатель ГИО (иммунные АОК в селезенке), но не влияло на параметры ГЗТ (РМ и РК лимфатических подколенных узлов). Применение глутоксима, мексидола и гептрала корректировало как уровень иммунных АОК, так и РМ, РК, но не до параметров здоровых животных.

Таким образом, при остром панкреатите, формирующемся при длительном воздействии спирта этилового, наиболее предпочтительной является комбинированная фармакологическая терапия, позволяющая влиять на несколько патогенетических звеньев одновременно.

Фармакологическая коррекция оксидантного стресса и метаболических эритроцитарных нарушений в условиях длительного введения этанола и экспериментального острого панкреатита. Установлено, что у животных с 5-кратным введением этанола оказалось увеличенным только содержание АГП, а у крыс с ОДП на фоне кратковременной алкогольной интоксикации выявлено повышение содержания продуктов ПОЛ (МДА и АГП), снижение уровня $СМ_{NO}$ и активности СОД.

В условиях ХАИ-30 повышена концентрация МДА, АГП, активность каталазы, при одновременном снижении СОД и уровня $СМ_{NO}$. Моделирование ОДП в этих условиях привело к более выраженному количественному повышению продуктов ПОЛ, снижению уровня $СМ_{NO}$, и факторов антиоксидантной защиты (за исключением активности каталазы) (рис. 2). Поступление этанола в течение 60 суток, по сравнению с его 30-дневным введением, увеличивало уровень МДА, АГП, $СМ_{NO}$ и снижало активность каталазы. При ОДП при 60-дневной хронической интоксикации этанолом наблюдалось развитие более выраженного по исследованным лабораторным параметрам «окислительного стресса» и снижение уровня $СМ_{NO}$ (рис. 2).



Обозначения:

- 1 – радиус окружности показатели интактных животных;
- 2 – ——— – показатели крыс с 30- и 60-дневной ХАИ + ОДП;
- 3 – - - - - – показатели крыс с 30- и 60-дневной ХАИ + ОДП + гепон, гипоксен и фосфоглив;
- 4 – - - - - – показатели крыс с 30- и 60-дневной ХАИ + ОДП + глутоксим, мексидол и гептрал;
- 5 – ● – скорректированный показатель ($p < 0,05$);
- 6 – ○ – показатель, нормализованный сочетанием гепон, гипоксен, фосфоглив ($p > 0,05$);
- 7 – □ – показатель, нормализованный сочетанием глутоксим, мексидол, гептрал ($p > 0,05$).

Legend:

- 1 – radius of a circle indicators of intact animals;
- 2 – ——— – indicators of rats with 30- and 60-day HAI + CCT;
- 3 – - - - - – indicators of rats with 30- and 60-day HAI + ODP + gepon, hypoxen and phosphogliv;
- 4 – - - - - – indicators of rats with 30- and 60-day HAI + ODP + glutoxim, mexidol and hepтрал;
- 5 – ● – corrected indicator ($p < 0.05$);
- 6 – ○ – indicator, normalized by the combination of gepon, hypoxen, phosphoglive ($p > 0.05$);
- 7 – □ – indicator normalized by the combination of glutoxim, mexidol, hepтрал ($p > 0.05$).

Рис. 2. Коррекция нарушений функциональной активности гепатоцитов при ОДП у крыс на фоне 30- и 60-дневного введения этанола

Fig. 2. Correction of impaired functional activity of hepatocytes in simulation of acute destructive pancreatitis in rats on the background of 30 and 60 days of ethanol injection

При ОДП в условиях ХАИ-30 однократное введение гипоксена, гепона и фосфоглива приближало статистически достоверно, но не достигая значений здоровых животных, концентрацию АГП, CM_{NO} , активность СОД и нормализовало ОАА и активность каталазы. Введение мексидола, глутоксима и гептрала в данных условиях корректировало ОАА, содержание МДА и

активность каталазы, нормализовало активность СОД, концентрацию АГП и CM_{NO} (рис. 2).

При 60-дневной интоксикации этиловым спиртом и моделировании ОДП применение фосфоглива, гипоксена и гепона нормализует активность каталазы и корректирует, но не достигая значений интактных животных, концентрацию продуктов ПОЛ

(МДА, АГП), стабильных метаболитов оксида азота (SM_{NO}) и активность СОД. Введение гептрала, глутоксима и мексидола в этих же условиях уменьшает в сторону контрольных животных, но не до их уровня, показатели ПОЛ и содержание SM_{NO} , нормализует ОАА, активность СОД и каталазы (рис. 2).

Далее нами изучены показатели метаболической активности циркулирующих эритроцитов. Выявлено, что кратковременное введение этанола снижает общее их количество красных кровяных клеток, активность в них СОД и сорбционные показатели (ССЭ и СЭГ). На этом фоне моделирование ОДП активизирует процессы ПОЛ (повышение концентрации АГП и МДА), приводит к более выраженному снижению активности СОД и параметров сорбционной способности эритроцитов (ССЭ) (рис. 2).

При ХАИ-30 и ХАИ-60, по сравнению с 5-дневной интоксикацией, установлено выраженное развитие внутриэритроцитарного оксидантного стресса (повышение продуктов ПОЛ с одновременным снижением факторов антиоксидантной защиты), снижение количества эритроцитов, причем более выражены эти явления при ХАИ-60. Следует отметить, что выявлена различная динамика сорбционных свойств эритроцитов: на фоне ХАИ-30 увеличено ССЭ и СЭГ, а при ХАИ-60 данные показатели снижены, причем ССЭ ниже значений контрольной группы (рис. 2).

Моделирование ОДП при 30-дневной интоксикации этанолом, по сравнению с введением только этанола, оказалось более выражено в количественном отношении, внутриэритроцитарного развития оксидантного стресса с разнонаправленными изменениями сорбционных показателей мембраны эритроцитов. ОДП при ХАИ-60 приводит к более явному, по сравнению с введением в течение 2 месяцев только спирта, снижению СЭГ, количества эритроцитов, гемоглобина в них, повышению ССЭ и концентрации МДА (рис. 2).

Применение в условиях ОДП в режиме 30-суточного введения этанола комбинации фосфоглива, гипоксена и гепона повышает содержание гемоглобина (Hb) и СЭГ,

нормализует ССЭ и уровень МДА. Введение в этих условиях мексидола, гептрала и глутоксима корректирует активность СОД, но не до уровня здоровых крыс, нормализует сорбционные показатели мембраны клеток, общее их количество и внутриклеточную концентрацию продуктов ПОЛ (АГП и МДА) (рис. 2).

Введение при ОДП на фоне 60-дневной интоксикации этанолом комплекса фосфоглива, гепон и гипоксен корректирует в сторону нормы содержание эритроцитов, АГП, активность СОД и нормализует количество Hb, не влияя на концентрацию МДА в эритроцитах и сорбционные параметры мембраны клеток. Использование в этих условиях мексидола, гептрала и глутоксима нормализует количество эритроцитов и содержание в них гемоглобина, приближает, но не до значений здоровых животных, остальные исследованные показатели метаболизма циркулирующих эритроцитов (рис. 2).

О развитии ОС в условиях ОДП, лабораторные признаки которого усиливаются в условиях ХАИ, свидетельствует повышение в плазме крови и эритроцитах концентрации продуктов ПОЛ (АГП и МДА) и снижение параметров антиоксидантной защиты (ОАА, активности СОД и каталазы) [19, 20].

Применение препаратов с иммуномодулирующими, антиоксидантными и гепатопротекторными эффектами оказывает выраженный положительный эффект в частичном купировании ОС и нарушении метаболизма эритроцитов.

Сравнительная корректирующая эффективность различных методов фармакологической коррекции метаболических и иммунных нарушений при длительном введении этанола и экспериментальном остром панкреатите. Применение двух различных сочетаний, включающих иммуномодуляторы, гепатопротекторы и антиоксиданты, для коррекции иммунометаболических патологических изменений при ОДП на фоне длительного введения этанола, закономерно поставило вопрос об их сравнительной эффективности.

Первоначально проведено количественное и качественное сравнение измене-

ний иммунометаболических параметров при введении только этанола в течение 5, 30 и 60 дней и в условиях ОДП на фоне кратковременной и длительной алкоголизации.

При количественном сравнении нарушенных показателей в разных условиях эксперимента с делением глубины изменений по степеням установлено, что при введении спирта этилового в течение 5 суток нарушенными из 24 лабораторных показателя оказались 10 (41,7%), из которых 2-3 степени всего 4 (16,7%). Этанольная интоксикация в течение 30 или 60 суток соответственно приводит к изменению 27 из 34 (79,4%) и 29 (85,3%) показателей с выраженным увеличением нарушений 2-3 степени: соответственно 38,3% и 50%. Сочетание принудительного введения спирта и ОДП по сравнению с поступлением только этанола изменяет большинство показателей в сторону 2-3 степени. Так, при 5-дневной интоксикации этанолом и ОДП это 87,5% параметров, из них 2-3 степени 66,7%, при ОДП на фоне ХАИ-30 и ХАИ-60 соответственно – 97,1% и 100%, а глубокие нарушения – 61,8% и 76,4%.

Была проведена сравнительная эффективность различных комбинаций иммуномодуляторов, антиоксидантов и мембранопротекторов при моделировании ОДП на фоне 30- и 60-дневной этанольной интоксикации.

У крыс с ОДП при ХАИ в разной степени были нарушены 97,1% изученных лабораторных показателей, характеризующих функциональную активность гепатоцитов, клеточную и гуморальную формы адаптивного иммунитета, ПОЛ, антиоксидантную защиту, функционально-метаболическую активность нейтрофилов и эритроцитов периферической крови. Введение гепона, гипоксена и фосфоглива нормализовало 12,1% измененных показателей, корректировало 60,6% и не оказывало влияния на 27,3%. Комбинация глутоксима, мексидола и гептрала оказалась наиболее эффективной, так как нормализовала 57,8%.

При качественном сопоставлении числа нарушенных исследованных иммунологических параметров выявлено, что при ОДП при ХАИ-30 без коррекции измененными от значений нормы было 97,1% исследованных показателей, при этом выявлено, что I степень нарушений имели 35,3%, а II и III соответственно – 26,5% и 35,3%. После коррекции, включавшей гепон, гипоксен и фосфоглив, измененными оказалось 87,9% параметров, а соответственно I, II и III степень нарушений имели 51,5%, 9,1% и 27,3%. После использования глутоксима, мексидола и гептрала нарушенными осталось 42,4% показателей (соответственно I, II и III степень нарушений была у 33,3%, 3% и 6,1% (табл. 4).

При ОДП при интоксикации этанолом в течение 60 суток оказались нарушенными 100% лабораторных показателей. Комбинация глутоксима, мексидола и гептрала оказалась наиболее эффективной, так как нормализовала 17,6%, корректировала 67,6% и не влияла на 14,7% исследованных параметров.

Следует отметить, что при ОДП на фоне ХАИ-30 в наименьшей степени подлежали коррекции параметры функционально-метаболической активности эритроцитов, то при ХАИ-60 – иммунные показатели.

При анализе качественных изменений установлено, что при ОДП на фоне ХАИ-60 без введения препаратов измененными от значений нормы было 100% исследованных показателей, при этом I степень нарушений имели 23,5%, а II и III соответственно по 38,2%. После использования гепона, гипоксена и фосфоглива, измененными оказалось 88,2% параметров иммунного статуса, а соответственно I, II и III степень нарушений имели 23,5%, 32,4% и 32,4%. После использования глутоксима, мексидола и гептрала нарушенными осталось 79,4% показателей (соответственно I, II по 29,4%, а III степень 18,9%.

Таблица 4

Сравнительная иммунометаболическая эффективность различных схем фармакологической коррекции при ОДП на фоне длительной алкогольной интоксикации

Table 4

Comparative immunometabolic efficacy of various pharmacological correction regimens in case of ADP on the background of prolonged alcohol intoxication

п/п	Условия исследования	Измененные показатели от значений здоровых животных		Измененные показатели по степени расстройств					
				I		II		III	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
30-дневная алкогольная интоксикация									
1	Без введения препаратов	33	97,1	12	35,3	9	26,5	12	35,3
2	Введение фосфоглива, гепона и гипоксена	29	87,9	17	51,5	3	9,1	9	27,3
3	Введение мексидола, глутоксима и гептрала	14	42,4	11	33,3	1	3	2	6,1
60-дневная алкогольная интоксикация									
1	Без введения препаратов	34	100	8	23,5	13	38,2	13	38,2
2	Введение фосфоглива, гепона и гипоксена	30	88,2	8	23,5	11	32,4	11	32,4
3	Введение мексидола, глутоксима и гептрала	27	79,4	10	29,4	10	29,4	7	18,9

Результаты оценки собственных корригирующих эффектов антиоксидантов, гепатопротекторов и иммуномодуляторов

при ОДП на фоне ХАИ представлены в таблице 5.

Таблица 5

Собственные корригирующие эффекты различных сочетаний иммуномодуляторов, антиоксидантов и гепатопротекторов при ОДП на фоне ХАИ

Table 5

Own corrective effects of various combinations of immunomodulators, antioxidants and hepatoprotectors in case of ADP on the background of chronic toxicity with ethanol

№ п/п	Схемы фармакологического лечения	Сумма показателей коррекции
1	ОДП на фоне ХАИ-30	
2	Гипоксен, фосфоглив и гепон	46
3	Мексидол, гептрал и глутоксим	84
4	ОДП на фоне ХАИ-60	
5	Гипоксен, фосфоглив и гепон	15
6	Мексидол, гептрал и глутоксим	37

По иммунологической и метаболической эффективности при ОДП на фоне ХАИ-30 сочетание гептрал, глутоксим, мексидол (84 балла) оказалась более предпочтительней чем фосфоглив, гепон, гипоксен (46 баллов).

При ХАИ-60 по иммунометаболической эффективности композиция мексидол, гептрал и глутоксим (37 баллов) оказалась также эффективнее сочетания гипоксен, фосфоглив и гепон (15 баллов).

Таким образом, использование различных статистических методов позволяет

утверждать, что в условиях ОДП на фоне ХАИ более эффективней оказалось сочетание глутоксим, мексидол и гептрал по сравнению с гепоном, гипоксеном и фосфогливом.

Заключение. Кратковременная интоксикация спиртом этиловым вызывает метаболические изменения реактивного характера, 30-дневное и 60-дневное его введение, ведет к формированию токсического повреждения печени, окислительному стрессу, дисбалансу формирования адаптивного и врожденного иммунного ответа, нарушениям функционально-метаболической активности циркулирующих эритроцитов. При остром деструктивном панкреатите у крыс на фоне алкогольной интоксикации установлено более выраженное развитие цитолитического синдрома, внутриклеточного холестаза, токсического поражения печени, активация свертывающей системы крови.

При оценке собственных корректирующих фармакологических эффектов при остром деструктивном панкреатите на фоне 30- и 60-дневной алкогольной интоксикации сочетание гептрала, глутоксима и мексидола (соответственно 84 и 37 баллов) оказалась более предпочтительней чем фосфоглива, гипоксена и гепона (соответственно 46 и 15 баллов).

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Дунаевская С.С. Хронический рецидивирующий панкреатит с образованием кальцинатов и петрификатов поджелудочной железы как исход острого алкогольного панкреатита // Кубанский научный медицинский вестник. 2013. Т. 138, № 3. С. 57-58.
2. Халютин Д.А. Терапевтический эффект новых нейропептидов и гепатопротектора моликсан при острых отравлениях этанолом // Токсикологический вестник. 2015. №2(131). С. 10-17.
3. Винник Ю.С. Риск развития осложнений при остром алкоголь-ассоциированном панкреатите // Новости хирургии. 2012. Т.20, №4. С. 38-41.
4. Конопля А.И. Взаимосвязь иммунометаболических и эритроцитарных нарушений с этиологией острого панкреатита. Курск: Изд-во ГОУ ВПО КГМУ Минздрава России, 2013. 162 с.
5. Мхитаров В.Л. Влияние длительного принудительного потребления алкоголя на иммунную систему самцов крыс Вистар, предпочитающих и не предпочитающих алкоголь // Медицинская иммунология. 2015. Т. 17, №5. С. 49.
6. Pathophysiological mechanisms of acute pancreatitis define inflammatory markers of clinical prognosis / G.A. Minkov [et al.] // Pancreas. 2015. Vol.44, №5. P. 713-717.
7. Особенности регуляции апоптоза иммунокомпетентных клеток крови при остром деструктивном панкреатите / Ю.С. Винник [и др.] // Новости хирургии. 2011. Т.19, №2. С. 37-42.
8. Показатели иммунного и оксидантного статуса при диагностике острого панкреатита билиарной и небилиарной этиологии / О.А. Суняйкина [и др.] // Медицинская иммунология. 2015. Т.17, №4. С. 381-382.
9. The predominance of a naive T helper cell subset in the immune response of experimental acute pancreatitis / A.I. Schmidt [et al.] // Pancreatology. 2017. Vol. 17, №2. P. 209-218.
10. Горский В.А. Синдром системной воспалительной реакции и возможный путь коррекции при остром панкреатите // Врач. 2014. №7. С. 47-49.
11. Караулов А.В. Иммунология, микробиология, иммунопатология кожи. Москва: Бинном, 2012. 328 с.
12. Иммуномодуляторы, антиоксиданты, гепатопротекторы в коррекции иммунометаболических нарушений при экспериментальном деструктивном остром панкреатите в условиях хронической алкогольной интоксикации / А.И. Конопля [и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2015. №16 (213). С. 141-148.
13. Effects of Tocilizumab on Experimental Severe Acute Pancreatitis and Associated Acute Lung Injury / K.L. Chen [et al.] // Crit Care Med. 2016. Vol. 44, №8. e664-677.
14. Экспериментальная модель панкреонекроза / В.А. Горский [и др.] // Анналы хирургической гепатологии. 2014. Т.19, №1. С. 103-109.
15. Дифференциальная лабораторная диагностика острого билиарного и небилиарного панкреатита / А.Л. Локтионов [и др.] // Научные ведомости БелГУ. Сер.: «Медицина. Фармация». 2015. №16, (213). Вып. 31. С. 31-39.

16. Морфологические особенности действия пептидных препаратов при остром отравлении этиловым спиртом в эксперименте / Д.А. Халютин [и др.] // Токсикологический вестник. 2015. Т. 133, №4. С. 31-37.

17. Indoleamine 2,3-dioxygenase is upregulated in the brain of rats with acute pancreatitis / H. Jiang [et al.] // Pancreatology. 2015. Vol. 15, №3. P. 281-285.

18. Зинкин В.Ю. Способ оценки кислород-зависимого метаболизма нейтрофильных гранулоцитов человека // Клиническая и лабораторная диагностика. 2004. № 2. С. 27-31.

19. Земсков А.М. Клиническая эффективность применения иммуотропных препаратов при гнойных инфекциях // Хирургия. 2011. № 2. С. 4-10.

20. Коррекция метаболической активности эритроцитов периферической крови при экспериментальном остром токсическом поражении печени / М.С. Разумова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 5. С. 51.

References

1. Dunaevskaya SS. [Chronic recurrent pancreatitis with the formation of calcifications and petrification of the pancreas as an outcome of acute alcoholic pancreatitis]. Kuban Scientific Medical Bulletin. 2013;138(3):57-58. Russian.

2. Khalyutin DA. [Therapeutic effect of new neuropeptides and hepatoprotector moliksan in acute poisoning with ethanol]. Toxikologicheskii vestnik. 2015;2(131): 10-17. Russian.

3. Vinnik YS. [Risk of complications in acute alcohol-associated pancreatitis]. Novosti Khirurgii. 2012;20(4):38-41. Russian.

4. Konoplya AI. The relationship of immunometabolic and erythrocyte disorders with the etiology of acute pancreatitis. Kursk: Publishing house GOU VPO KGMU Minzdrava Rossii; 2013.

5. Mkhitarov VL. [The influence of long-term forced alcohol consumption on the immune system of male Wistar rats, who prefer and do not prefer alcohol]. Medical immunology. 2015;17(S):49. Russian.

6. Minkov GA, Halacheva KS, Yovtchev YP, et al. Pathophysiological mechanisms of acute pancreatitis define inflammatory markers of clinical prognosis. Pancreas. 2015;44(5):713-717.

7. Vinnik YS, Cherdancev DV, Salmina AB, et al. [Features of regulation of apoptosis of immunocompetent blood cells in acute destructive pancreatitis]. Novosti Khirurgii. 2011;19(2):37-42. Russian.

8. Suinyakina OA, Konoplya AI, Loktionov AL, et al. [Indicators of immune and oxidative status in the diagnosis of acute pancreatitis of biliary and non-biliary etiology]. Medical immunology. 2015;17(4):381-382. Russian.

9. Schmidt AI, Kühlbrey C, Lauch R, et al. The predominance of a naive T helper cell subset in the immune response of experimental acute pancreatitis. Pancreatology. 2017;17(2):209-218.

10. Gorsky VA. [Systemic inflammatory reaction syndrome and a possible way of correction in acute pancreatitis]. Vrach. 2014;7:47-49.

11. Karaulov AV. Immunology, Microbiology, immunopathology of the skin. Moscow: Binom; 2012.

12. Konoplya AI, Bushmina ON, Loktionova AV, et al. [Immunomodulators, antioxidants, membrane protectors in the correction of immunometabolic disturbances in experimental destructive acute pancreatitis in conditions of chronic alcoholic intoxication]. Scientific Bulletin of Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacy. 2015;16(213):141-148. Russian.

13. Chen KL. Effects of Tocilizumab on Experimental Severe Acute Pancreatitis and Associated Acute Lung Injury. Crit Care Med. 2016;44(8):e664-677.

14. Gorsky VA, Agapov MA, Leonenko IV, et al. [Experimental Model of Pancreonecrosis]. Annaly Khirurgicheskoi Gepatologii. 2014;19(1):103-109. Russian.

15. Loktionov AL, Kozlova AI, Voropaev EV, et al. [Differential laboratory diagnostics of acute biliary and nonbiliary pancreatitis]. Scientific Bulletin of Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacy. 2015;16(213). Iss. 31:31-39. Russian.

16. Halutin DA. [Morphological features of action of peptide preparations in acute poisoning with ethyl alcohol in experiment]. Toksikologicheskii vestnik. 2015;133(4):31-37. Russian.

17. Jiang H, Li F, Liu S, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase is upregulated in the brain of rats with acute pancreatitis. Pancreatology. 2015;15(3):281-285.

18. Zinkin VU. [Method of assessment of oxygen-dependent metabolism of neutrophils in humans]. Klinicheskaya i laboratornaya diagnostika. 2004;2:27-31. Russian.

19. Zemskov AM. [Clinical efficacy of immune modulating drugs in septic infections]. Khirurgia. 2011;2:4-10. Russian.

20. Razumova MS, Litvinova ES, Bystrova NA, et al. [Correction of the metabolic activity of peripheral blood erythrocytes in experimental acute liver toxicity]. Modern problems of science and education. 2016;5:51. Russian.

Информация об авторах

Ольга Николаевна Бушмина, ассистент кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет». E-mail: o.buschmina@yandex.ru.

Алексей Леонидович Локтионов, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры хирургических болезней №2 ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет». E-mail: ala-loc@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-4833-1581.

Светлана Анатольевна Долгарева, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет». E-mail: dolgareva-svetlana@rambler.ru.

Александр Иванович Конопля, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет». E-mail: konoplya51@mail.ru.

Information about the authors

Olga N. Bushmina, Assistance Lecturer of the Department of Biological Chemistry, Kursk State Medical University. E-mail: o.buschmina@yandex.ru.

Alexey L. Loktionov, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Professor of the Department of Surgical Diseases №2, Kursk State Medical University. E-mail: ala-loc@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-4833-1581.

Svetlana A. Dolgareva, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Professor of the Department of biological chemistry, Kursk State Medical University. E-mail: dolgareva-svetlana@rambler.ru.

Alexandr I. Konoplya, Doctor of Medical Sciences, Professor, Honored Worker of Science of the Russian Federation, Head of the Department of Biological Chemistry, Kursk State Medical University. E-mail: konoplya51@mail.ru.

Статья поступила в редакцию 8 июля 2018 г.
Receipt date 2018 July 8.

Статья принята к публикации 25 сентября 2018 г.
Accepted for publication 2018 September 25.



УДК 615.454.2

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-6

А.А. Чахирова¹,
Е.В. Ковтун¹,
М.А. Огай¹,
Э.Ф. Степанова¹,
Н.Л. Нам²

**Разработка состава и анализ суппозитория
антигеморроидального действия**

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет», пр. Калинина, д. 11, г. Пятигорск, 357532, Российская Федерация

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский Государственный Аграрный Университет-МСХА имени К.А. Тимирязева», ул. Тимирязевская, д. 49, г. Москва, 127550, Российская Федерация
Автор для переписки: Е.В. Ковтун (elena.f.73@mail.ru)

Информация для цитирования: Разработка состава и анализ суппозитория антигеморроидального действия / А.А. Чахирова [и др.] // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 4. С. 52-59. [Chahirova AA, Kovtun EV, Ogay MA, et al. Development of the composition and analysis of suppositories of antihemorrhoidal action. Research Results in Biomedicine. 2018;4(4):52-59 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-6

Аннотация

Актуальность: Исследование посвящено разработке состава и оценке качества суппозитория двухслойных с экстрактом рябины обыкновенной плодов масляным и экстрактом гинкго билоба листьев жидким. Прямое венотропное действие флавоноидного комплекса в сочетании с вяжущим, кровоостанавливающим, капилляроукрепляющим и регенерирующим действием биологически активных веществ плодов рябины оказывает комплексное воздействие на очаги воспаления слизистой, увеличивая при этом тонус в сосудистой стенке и микроциркуляцию, поэтому совместное использование биологически активных веществ растений дает положительный результат в терапии заболеваний прямой кишки. **Цель исследования:** Разработка состава суппозитория двухслойных с экстрактом рябины плодов масляным и экстрактом гинкго билоба листьев жидким, для лечения заболеваний прямой кишки. Исследуемый состав суппозитория предполагает их антигеморроидальный эффект. Для реализации поставленной цели необходимо было определить влияние компонентов основы, с помощью метода диализа через полупроницаемую мембрану, на высвобождение действующих веществ из суппозитория. Для качественного обнаружения флавоноидов использовали характерные реакции. Применяя спектрофотометрию, определили концентрацию высвобождения флавоноидов из полученной лекарственной формы. **Материалы и методы:** Высвобождение флавоноидов качественно определяли, используя ряд реакций, в том числе пробу цинидиновую, взаимодействие с алюминия хлоридом и с едкими щелочами, а также метод хроматографии тонкослойной. Количественно флавоноиды опре-

деляли методом спектрофотометрии (длина волны 365 нм). Так же использованы фармакопейные методы определения температуры плавления и время растворения. **Результаты:** Таким образом, был разработан состав суппозиториев двухслойных содержащих активные комплексы растительных объектов. **Заключение:** Проведены исследования, доказывающие биофармацевтическим и технологическим путем, соответствие полученных суппозиториев нормам качества.

Ключевые слова: геморрой; суппозитории; рябина обыкновенная; гинкго билоба; флавоноиды; каротиноиды

Anna A. Chahirova¹,
Elena V. Kovtun¹,
Marina A. Ogay¹,
Eleonora F. Stepanova¹,
Natalia L. Nam²

Development of the composition and analysis of suppositories of antihemorrhoidal action

¹Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University,
11 Kalinin Ave., Pyatigorsk, 357532, Russia

²Russian State Agrarian University Moscow Timiryazev Agricultural Academy,
49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127550, Russia

Corresponding author: Elena V. Kovtun (elena.f.73@mail.ru)

Abstract

Background: The study is devoted to the development of composition and assessment of the quality of two-layered suppositories with an oil extract of rowanberries (*Sorbus aucuparia*) and a liquid extract of ginkgo biloba leaves. The direct venotropic action of the flavonoid complex in combination with astringent, hemostatic, capillary-strengthening and regenerating action of the active components of *Sorbus aucuparia* has a complex effect on inflammatory foci of the mucosa, thereby increasing microcirculation and tone in the vascular wall, therefore, the joint use of biologically active substances of plants gives a positive result in the therapy of diseases of the rectum. **The aim of the study:** is to develop a composition of two-layer suppositories with an oil extract of rowanberries and a liquid extract of ginkgo biloba leaves for the treatment of diseases of the rectum. The investigated composition of suppositories is supposed to have an antihemorrhoidal effect. To achieve this goal, it is necessary to solve the problems: to determine the effect of the base composition by the dialysis method through a semipermeable membrane, to release active substances from suppositories. A number of qualitative reactions were used for the qualitative detection of flavonoids. Using spectrophotometry, we determined the concentration of liberation of flavonoids from the resulting dosage form. **Materials and methods:** The release of flavonoids was qualitatively determined using a number of reactions, including a cyanidic sample, reaction with aluminum chloride and caustic alkalis, and TLC. Quantitatively, the flavonoids were determined by spectrophotometry (wavelength 365 nm). Pharmacopoeial methods for determining the melting point and dissolution time were also used. **Results:** Thus, the composition of suppositories of two-layered active complexes of plant objects was developed. **Conclusion:** Bio-pharmaceutical and technological studies were carried out proving the compliance of received suppositories with quality standards.

Keywords: hemorrhoids; suppositories; mountain ash; ginkgo biloba; flavonoids; carotenoids

Актуальность. В виде ректальных лекарственных форм назначают вещества с разнообразными фармакологическими и физико-химическими свойствами [1]. В настоящее время суппозитории, как лекарственная форма продолжают развиваться и совершенствоваться. Так разработаны и уже вошли в практику суппозитории полые и двухслойные [2, 3, 4, 5].

В качестве активных компонентов разрабатываемых суппозиториев, нами были выбраны фитокомплексы рябины обыкновенной плодов и гинкго билоба листьев.

Известно, что в зрелых плодах рябины обыкновенной содержатся кислоты органические (янтарная, сорбиновая, лимонная, винная и яблочная), пектиновые и дубильные вещества, масла эфирные, натриевые, магниевые, кальциевые и калиевые соли, кроме того они богаты каротиноидами в числе которых β -каротин, на долю которого приходится 18 – 20 мг/100 г (на сухую массу), витамины С (40 – 200 мг/100 г), Р, В₂, Е. [6, 7].

В состав биологически активных веществ гинкго билоба листьев входят: лактоны терпеновые, представленные дитерпенами – гинкголиды А, В, С, J (0,06-0,23) и сесквитерпенами: билобалидами – билобалид А (до 0,26%); флавоноиды: флавонолы (агликоны изорамнетин, кемпферол, кверцетин, мирецетин – 0,2%-1,4%), флавонолы (катехины), флавоны и бифлавоны (аментофлафон, гинкгетин, изогинкгетин), катехины, процианидины; тритерпены (стероиды, фитостеролы), каротиноиды, полипренолы, летучие терпены, органические кислоты, в т.ч. гинкголиевая кислота, воска, липиды [8, 9].

Совместное использование этих биологически активных веществ может дать положительный результат в лечении заболеваний прямой кишки, т.к. прямое венотропное действие флавоноидной группы в сочетании с заживляющими свойствами активных веществ рябины плодов окажет комплексное действие на пораженные участки слизистой кишечника, увеличивая при этом микроциркуляцию и тонус в сосудистой стенке [10, 11].

Целью работы является выбор состава и оценка качества суппозиториев двухслойных с экстрактом рябины обыкновенной плодов масляным и экстрактом гинкго билоба листьев жидким.

Материалы и методы. Для получения экстракта рябины плодов масляного использовали метод репрессования, экстракта гинкго билоба листьев жидкого, метод реперколяции с завершённым циклом, в батаре из 5 диффузоров [6, 12].

Используя мембрану полупроницаемую и метод диализа, исследовали влияние состава основы на высвобождение действующих веществ из суппозиториев с гинкго билоба листьев экстрактом жидким. Качественно высвобождение флавоноидов определяли, используя пробу цианидиновую, взаимодействие с алюминия хлоридом и с едкими щелочами, а также метод хроматографии тонкослойной. Количество высвободившихся флавоноидов определяли с помощью спектрофотометрии, при длине волны 365 нм [13, 14, 15].

Результаты исследования и обсуждение.

Для приготовления суппозиториев использовали основы:

— «Новата», «Витепсол», Suprocir cs 2х, «Твёрдый жир (типС)+ кондитерский», «Твёрдый жир (тип А) кондитерский» для масляного экстракта рябины обыкновенной [3, 16];

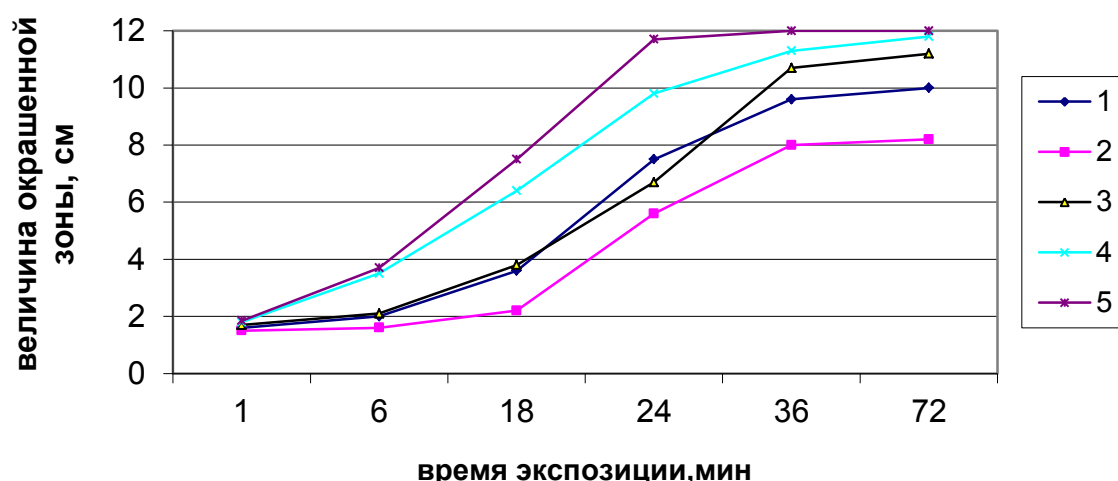
— «Витепсол», «Supocir cs2х», «Твёрдый жир (тип В) кондитерский», «ПЭГ 400:ПЭГ 1500 (20:80)», «ПЭГ 400:ПЭГ 4000 ПЭГ1500: (10:20:70)» для жидкого экстракта гинкго билоба листьев [16, 17, 18].

Установлено экспериментально, что высвобождение каротиноидов максимальное наблюдается из суппозиториев с экстрактом рябины плодов масляным, приготовленных на основе «Твёрдый жир (тип А) кондитерский».

Наиболее полное высвобождение флавоноидов из суппозиториев в диализат происходит при использовании основы «Твёрдый жир (тип В) кондитерский» (через 60 минут высвободилось 85%) [5, 19, 20].

Результаты проведенных исследований представлены на рисунках 1, 2.

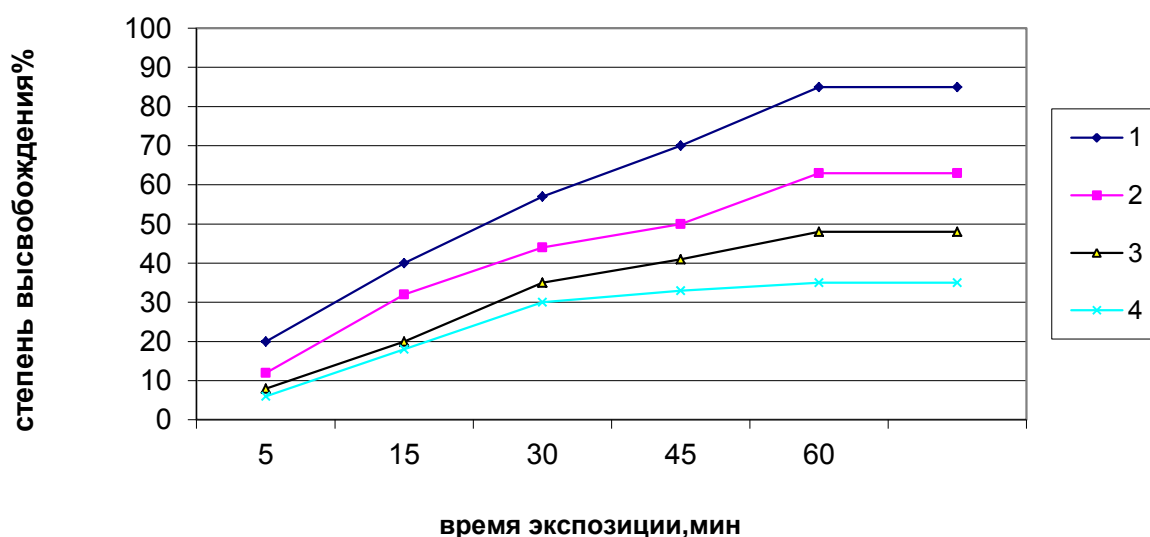
Определение качества суппозиториев по методикам, предусмотренным фармакопеей [18, 20, 21], представлены в таблицах 1, 2.



1 – Витепсол
2 – Новата
3 – «Твёрдый жир (тип C) кондитерский»
4 – Suppocir
5 – «Твёрдый жир (тип A) кондитерский»

1 - Witepsol
2 - Novata
3 - "Solid fat (type C) confectionery"
4 - Suppocir
5 - "Solid fat (type A) confectionery"

Рис. 1. Зависимость степени высвобождения каротиноидов из суппозитория, приготовленного на различных основах, с экстрактом рябины плодов масляным
Fig. 1. Dependence of the degree of release of carotenoids from suppositories prepared on various bases with an oil extract of rowanberries (*Sorbus aucuparia*)



1 – «Твёрдый жир (тип B) кондитерский»
2 – Suppocir cs2x
3 – ПЭГ 400: ПЭГ 1500 (20:80)
4 – ПЭГ 400: ПЭГ 1500: ПЭГ 4000 (10:70:20)

1 - "Solid fat (type B) confectionery"
2 - Suppocir cs2x
3 - PEG 400: PEG 1500 (20:80)
4 - PEG 400: PEG 1500: PEG 4000 (10:70:20)

Рис. 2. Кинетические кривые высвобождения флавоноидов из суппозитория, изготовленного на различных основах, при диализе через полупроницаемую мембрану
Fig. 2. Kinetic curves of liberation of flavonoids during dialysis through a semipermeable membrane from suppositories made from different bases

Таблица 1

**Показатели качества суппозиторий с экстрактом рябины обыкновенной
плодов масляным**

Table 1

Quality indicators of suppositories with an oil extract of rowanberries (*Sorbus aucuparia*)

Основа	Однородность	Т плавления, °С	Т затвердевания, °С	Содержание каротиноидов
Витепсол	+	33,50±1,14%	25,65±4,85%	0,290±2,68%
Suprocir	+	33,12±1,18%	25,43±4,65%	0,392±2,64%
Твердый жир (тип А) кондитерский	+	33,23±1,15%	25,38±4,3%	0,405±2,86%
Новата	+	34,20±0,95%	25,85±4,70%	0,235±2,78%
Твердый жир (тип С) кондитерский	+	33,30±1,08%	26,15±4,43%	0,305±2,93%

Таблица 2

Показатели качества суппозиторий с жидким экстрактом гинкго билоба листьев

Table 2

Quality indicators of suppositories with a liquid extract of ginkgo biloba leaves

Основа	Однородность	Т плавления, °С	Т затвердевания, °С	Содержание флавоноидов, г
«Твёрдый жир (тип В) кондитерский»	+	36,42±0,3%	28,6±0,8%	0,0035
Витепсол	-	37,51±0,7%	29,7±1,2%	0,0030
Suprocir cs2x	+	36,13±0,8%	28,4±0,9%	0,0045
ПЭГ400:ПЭГ4000 ПЭГ1500 (10:20:70)	+	-	-	0,0032
ПЭГ400:ПЭГ1500 (20:80)	+	-	-	0,0038

Время растворения суппозиторий приготовленных на основе ПЭГ400:ПЭГ4000:ПЭГ1500 (10:20:70), превысило допустимые нормы.

Таким образом, на основании предварительных исследований нами были разработаны суппозитории двухслойные следующего состава:

Внешняя оболочка:

1. Экстракт рябины обыкновенной масляный 0,5

2. Основа: «Твёрдый жир (тип А) кондитерский» (Т.пл. = 33,23±1,15%) достаточное количество для получения суппозиторий массой 2,0

Внутренний слой (ядро):

1. Экстракт гинкго билоба листьев жидкий 0,5

2. Основа: «Твёрдый жир (тип В) кондитерский» (Т.пл. = 36,42±0,3%), достаточное количество для получения суппозиторий массой 2,0

Заключение. Предложен состав и разработана технологическая схема получения двухслойных суппозиторий с экстрактом рябины плодов масляным и экстрактом гинкго билоба листьев жидким, проведены биофармацевтические и технологические исследования доказывающие соответствие полученных суппозиторий нормам качества.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Регистр лекарственных средств РЛС [Электронный ресурс]. URL:

<https://www.rlsnet.ru/> (дата обращения: 04.04.2018).

2. Астраханова М.М., Охотникова В.Ф. Суппозитории как лекарственная форма высокой биологической доступности // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2010. Т. 8, № 6. С. 9-12.

3. Демина Н.Б. Современные аспекты производства лекарственной формы суппозитории // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. № 2(15). С. 60-69.

4. Захараш М.П., Владичук Я.В., Мальцев В.М. Комплексное лечение геморроя I-II степени в амбулаторной практике // Хирургия Украины. 2010. № 4. С. 40-44.

5. Зырянова И.Г. Оценка фармакологической активности новой фармацевтической композиции мягкой лекарственной формы (ректальные суппозитории), содержащей кетанов и амитриптилин // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. 2014. Т. 16, № 4. С. 282-284.

6. Чахирова А.А. Технологические исследования по разработке масляного экстракта из плодов рябины обыкновенной и перспективы его использования: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Пятигорск, 2008.

7. Технология и анализ суппозиторий, содержащих растительные масляные экстракты рябины обыкновенной, зверобоя продырявленного и сушеницы топяной / А.А. Чахирова [и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2012. Т. 18, № 10-2(129). С. 127-132.

8. Флавоноиды листьев гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L.) / В.А. Куркин [и др.] // Химия растительного сырья. 2012. № 2. С. 85-88.

9. American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium. Ginkgo leaf. Ginkgo leaf dry extract. Standards of analysis, quality control and therapeutics. 2003.

10. Лиманова О.А., Назаренко М.Е., Штрыголь С.Ю. Новые аспекты фармакологии стандартизованного экстракта Гинкго билоба (билобил): ренальные эффекты // Новости здравоохранения. 2002. № 3. С. 36-40.

11. Онбыш Т.Е., Макарова Л.М., Погорелый В.Е. Механизмы реализации фармакологической активности экстракта гинкго билоба // Современные наукоемкие технологии. 2005. № 5. С. 22-25.

12. Саморядова А.Б., Ковтун Е.В. Разработка технологии и нормирования качества жидкого экстракта софоры желтеющей корней

(*Sophorae flavescens*) с рациональным использованием сырья // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014. Т.16. /№ 1-3. С. 821-824.

13. Буланкин Д.Г. Исследование по стандартизации и разработке лекарственных средств на основе листьев гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L.): автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Самара, 2011. 23 с.

14. Ковтун Е.В. Разработка технологии и норм качества экстракта душицы обыкновенной жидкого: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Пятигорск, 1999. 23 с.

15. Куркин В.А., Буланкин Д.Г. Определение флавоноидов в сырье и препаратах гинкго двулопастного // Фармация. 2011. № 2. С. 12-14.

16. Стрельцова Р.М., Черентаева Т.И. Суппозиторная основа твердый жир и биофармацевтические аспекты ее использования в производстве суппозиторий: материалы ежегодной научной конференции рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова, 2016. С. 431-433.

17. Ковтун Е.В., Чахирова В.А., Чахирова А.А., Саморядова А.Б. Технологические исследования по разработке суппозиторий с двухфазным экстрактом душицы: разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. Пятигорск, 2015. С. 117-120.

18. Кондратьева И.А., Смехова И.Е. Требования фармакопей к ректальным суппозиториям // Фармация. 2012. № 1. С. 54-56.

19. Кугач В.В., Ржеусский С.Э. Влияние технологических факторов на качество суппозиторий // Вестник фармации. 2016. № 1(71). С. 21-27.

20. Результаты и перспективы использования теста «растворение» для фармацевтической разработки и стандартизации суппозиторий / Т.В. Орлова, А.В. Нестерова, Н.Д. Огнещикова, А.А. Демченко // Фармацевтическое образование, наука и практика: горизонты развития: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 50-летию фармацевтического факультета КГМУ (г. Курск, 20-21 октября 2016 г.) / под ред. В.А. Лазаренко, И.Л. Дроздовой, И.В. Зубковой, О.О. Куриловой. Курск: ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России, 2016. С. 358-363.

21. Государственная фармакопея XIII [Электронный ресурс]. URL: <http://pharmacopoeia.ru/gosudarstvennaya-farmakopeya-xiii-online-gf-13-online/> (дата обращения: 04.04.2018).

References

1. [Drug Register] [Internet] [cited 2018 Apr 04]. Available from: <https://www.rlsnet.ru/>. Russian.
2. Astrakhanova MM, Okhotnikova VF. [Suppositories as a medicinal form of high bioavailability]. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2010;8(6):9-12. Russian.
3. Demina NB. [Modern aspects of the production of the dosage form of suppositories]. Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv. 2016;2(15):60-69. Russian.
4. Zakharash MP, Vladichuk YaV, Maltsev VM. [Complex treatment of hemorrhoids I-II degree in outpatient practice]. Khirurgiya Ukrainy. 2010;4:40-44. Russian.
5. Zyryanova IG. [Evaluation of the pharmacological activity of a new pharmaceutical composition of a soft dosage form (rectal suppositories) containing ketones and amitriptyline] Zhurnal nauchnykh statey Zdorov'ye i obrazovaniye v XXI veke. 2014;16(4):282-284. Russian.
6. Chakhirova AA. [Technological studies on the development of an oil extract from the fruits of mountain ash and the prospects for its use] [dissertation]. Pyatigorsk; 2008. Russian.
7. Chakhirova AA, Blagorazumnaya NV, Chakhirova VA, et al. [Technology and analysis of suppositories containing vegetable oil extracts of mountain ash, St. John's wort and perennial swine]. Belgorod State University Scientific Bulletin: Medicine. Pharmacy. 2012;18(10-2(129)):127-132. Russian.
8. Kurkin VA, Bulankin DG, Dayeva ED, Kadentsev VI. [Flavonoid leaves of ginkgo biloba (*Ginkgo biloba* L.)]. Khimiya rastitel'nogo syrya. 2012;2:85-88. Russian.
9. American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium. Ginkgo leaf. Ginkgo leaf dry extract. Standards of analysis, quality control and therapeutics. 2003.
10. Limanova OA, Nazarenko ME., Shtrygol SYu. [New aspects of the pharmacology of the standardized extract of Ginkgo biloba (biloby): renal effects]. Health News. 2002;3:36-40. Russian.
11. Onbysh TE, Makarova LM, Pogorelyy VE. [Mechanisms for the realization of the pharmacological activity of the extract of ginkgo biloba]. Sovremennyye naukoymkiye tekhnologii. 2005;5:22-25. Russian.
12. Samoryadova AB, Kovtun EV. [Development of technology and normalization of the quality of liquid extract Sophora yellowing roots (*Sophora flavescens*) with rational use of raw materials]. Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk. 2014;16(1-3):821-824. Russian.
13. Bulankin DG. [The study on standardization and development of medicines based on the leaves of ginkgo biloba (*Ginkgo biloba* L.)] [dissertation]. Samara; 2011. Russian.
14. Kovtun EV. [Development of technology and quality standards for extract of oregano ordinary liquid] [dissertation]. Pyatigorsk; 1999. Russian.
15. Kupkin VA, Bulankin DG. [Determination of flavonoids in raw materials and preparations of ginkgo biloba]. Farmatsiya. 2011;2:12-14. Russian.
16. Streltsova RM, Cherentayeva TI. [Suppository base solid fat and biopharmaceutical aspects of its use in the production of suppositories]. Materialy yezhegodnoy nauchnoy konferentsii ryazanskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta imeni akademika I.P. Pavlova; 2016. P. 431-433. Russian.
17. Kovtun EV, Chakhirova VA, Chakhirova AA, et al. [Technological research on the development of suppositories with a two-phase extract of oregano]. Proceedings of the Razrabotka, issledovaniye i marketing novoy farmatsevticheskoy produktsii. Pyatigorsk; 2015. P.117-120. Russian.
18. Kondratyeva IA, Smekhova IE. [Pharmacopeia requirements for rectal suppositories]. Farmatsiya. 2012;1:54-56. Russian.
19. Kugach VV, Rzhesskiy SE. [The influence of technological factors on the quality of suppositories]. Bulletin of Pharmacy. 2016;1(71):21-27. Russian.
20. Orlova TV, Nesterova AV, Ogneshchikova ND, et al. [Results and prospects of using the dissolution test for pharmaceutical development and standardization of suppositories]. In: Lazarenko VA, Drozdovoy IL, Zubkovoy IV, Kurilovoy OO, editors. Farmatsevticheskoye obrazovaniye, nauka i praktika: gorizonty razvitiya [Pharmaceutical Education, Science and Practice: Development Horizons]. Proceedings of Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiyem, posvyashchennoy 50-letiyu farmatsevticheskogo fakul'teta KGMU; 2016 Oct 20-21; Kursk. Kursk: FGBOU VO KGMU Minzdrava Rossii; 2016. P. 358-363. Russian.
21. [State Pharmacopeia XIII] [Internet] [cited 2018 Apr 04]. Available from: <http://pharmacopoeia.ru/gosudarstvennaya-farmakopeya-xiii-online-gf-13-online/>. Russian.

Информация об авторах

Анна Анатольевна Чахирова, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет». E-mail: annachaxirova@gmail.com.

Елена Владимировна Ковтун, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет». E-mail: elena.f.73@mail.ru.

Марина Алексеевна Огай, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет». E-mail: marinfarm@yandex.ru.

Элеонора Федоровна Степанова, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет».

Наталья Леонидовна Нам, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры химии, ФГБОУ ВО «Российский Государственный Аграрный Университет-МСХА имени К.А. Тимирязева».

Information about the authors

Anna A. Chahirova, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Technology with the course of medical biotechnology, Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University. E-mail: annachaxirova@gmail.com.

Elena V. Kovtun, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Senior Lecturer of the Department of Pharmaceutical Technology with the course of medical biotechnology, Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University. E-mail: elena.f.73@mail.ru.

Marina A. Ogay, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor of the Department of Pharmaceutical Technology with the course of medical biotechnology, Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University. E-mail: marinfarm@yandex.ru.

Eleonora F. Stepanova, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Department of Pharmaceutical Technology with the course of medical biotechnology, Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University.

Natalia L. Nam, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department of Chemistry, Russian State Agrarian University Moscow Timiryazev Agricultural Academy.

Статья поступила в редакцию 31 мая 2018 г.
Receipt date 2018 May 31.

Статья принята к публикации 14 августа 2018 г.
Accepted for publication 2018 August 14.

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА CLINICAL MEDICINE



УДК 576.08

DOI:10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-7

И.И. Болотов

Влияние пептида KED на экспрессию коннексина и сиртуина при атеросклерозе и рестенозе у людей пожилого возраста

Автономная научная некоммерческая организация высшего образования научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», пр. Динамо, д. 23, г. Санкт-Петербург, 197110, Российская Федерация
Автор для переписки: И.И. Болотов (i.bolotov26@yandex.ru)

Информация для цитирования: Болотов И.И. Влияние пептида KED на экспрессию коннексина и сиртуина при атеросклерозе и рестенозе у людей пожилого возраста // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 4. С. 60-68. [Bolotov II. Effects of KED peptide on connexin and sirutin expression in atherosclerosis and restinosis in elderly people. Research Results in Biomedicine. 2018;4(4):60-68 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-7

Аннотация

Актуальность: Несмотря на широкий спектр применения пептида KED, молекулярные механизмы все еще находятся в стадии изучения. **Цель исследования:** Изучить влияние пептида KED на экспрессию коннексина и сиртуина при атеросклерозе и рестенозе у людей пожилого возраста. **Материалы и методы:** Для исследования использовали культуры клеток полученные из аорты без признаков патологии, а также из аорты с признаками атеросклеротического поражения, аорты человека при рестенозе. Первичное выделение культуры проводили на чашках Петри (Sarstedt), с фибриногеновым покрытием (Gibco), далее, культивировали клетки во флаконах объемом 50 мл (Sarstedt 25 см²). Выращивание клеток проводили в культуральной среде во флаконе (5 мл) и в чашке Петри, диаметром 3,5 см (3 мл), а также в 1 мл на лунку 24-луночного планшета. В работе использовали стерильный раствор пептида KED в концентрации 100 мкг на 1 мл. Иммуноцитохимическое исследование проводили и использованием первичных моноклональных антител Connexin 37 (Dako, USA) и Sirtuin (Sirt) – 1 (Abcam, UK). Для оценки результатов иммуноцитохимического окрашивания использовали морфометрический метод – систему компьютерного анализа микроскопических изображений, включающую микроскоп Olympus BX40. **Результаты:** Экспрессия Connexin37 в культуре эндотелия, взятого у пациента пожилого возраста, при атеросклерозе была снижена в 3.6 раза, а при стенозе – в 6,2 раза по сравнению с нормой. Пептид KED способствовал повышению в 1,6 раза экспрессии Connexin 37 в культурах эндотелиоцитов, пораженных атеросклерозом и в 2,3 раза в культурах, пораженных рестенозом. Экспрессия Sirt1 в эндотелии при атеросклерозе и рестенозе была в 2 раза ниже по сравнению с нормой. Пептид KED способствовал повышению в 1,5 раза экспрессии Sirt1 в культурах эндотелиоцитов, пораженных атеросклерозом и рестенозом. **Заключение:** Высокие уровни Endothelin1 в плазме крови

наблюдаются при атеросклерозе, ишемии и гипертензии, следовательно, пептид KED, способствующий снижению синтеза этой молекулы, будет способствовать профилактике развития этой сердечнососудистой патологии.

Ключевые слова: пептид KED; пожилой возраст; экспрессия; коннексины; сиртуины

Ivan I. Bolotov

Effects of KED peptide on connexin and sirutin expression in atherosclerosis and restenosis in elderly people

St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology,
23 Dynamo Ave., St. Petersburg, 197110, Russia

Corresponding author: Ivan I. Bolotov (i.bolotov26@yandex.ru)

Abstract

Background: Despite the wide range of application of the KED peptide, the molecular mechanisms of its action are still not fully understood. **The aim of the study:** To study the effect of the KED peptide on the expression of connexin and sirutin in atherosclerosis and restenosis in the elderly. **Materials and methods:** For the study, the cell cultures obtained from the aorta without pathological changes, human atherosclerotic aorta, and human aorta during restenosis were used. Primary culture was isolated on Petri dishes (Sarstedt) treated with a solution of fibrinogen (Gibco), the subsequent cultivation was carried out in vials with a surface of 50 ml (Sarstedt 25 cm²). Cells were grown in 5 ml of culture medium per bottle and 3 ml of culture medium per Petri dish with a diameter of 3.5 cm, in 1 ml per well of a 24-well plate. In this work, the KED peptide was used in the form of a sterile solution, packaged in ampoules in a concentration of 100 µg in 1 ml. For immunocytochemical studies, the following primary monoclonal antibodies Connexin 37 (Dako, USA) and Sirtuin (Sirt)-1 (Abcam, UK) were used. To evaluate the results of immunocytochemical staining, a morphometric study was performed using a computer microscopic image analysis system including the Olympus BX40 microscope. **Results:** The expression of Connexin37 in the culture of the endothelium obtained from an elderly patient with atherosclerosis decreased by 3.6 times, and with stenosis – by 6.2 times compared with the norm. The KED peptide contributed to a 1.6-fold increase in Connexin 37 expression in cultures of endotheliocytes affected by atherosclerosis and 2.3 times in cultures affected by restenosis. The expression of Sirt1 in the endothelium in atherosclerosis and restenosis was 2 times lower compared with the norm. The KED peptide contributed to a 1.5-fold increase in the expression of Sirt1 in cultures of endotheliocytes affected by atherosclerosis and restenosis. **Conclusion:** High levels of Endothelin1 in the blood plasma are observed in atherosclerosis, ischemia and hypertension, therefore, the KED peptide, contributing to a decrease in the synthesis of this molecule, will help prevent the development of this cardiovascular pathology.

Keywords: KED peptide; elderly age; expression; connexins; sirutins

Введение. Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) занимают в мире одну из лидирующих позиций в ряду болезней с самым высоким риском летального исхода [1, 2]. В большинстве стран основной причиной смертности населения в пожилом и старческом возрасте является ишемическая бо-

лезнь сердца (ИБС) (38-42%). По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 30 и более процентах случаев смерть людей старше 60 лет вызывает инфаркт миокарда, развившийся на почве выраженного атеросклероза аорты и коронарных артерий [3, 4].

Исследование механизмов, лежащих в основе старения эндотелиальных клеток сосудов, и изучение возможных методов регуляции этого процесса с использованием коротких вазопротекторных белковых молекул открывает перспективы для разработки вазо- и геропротекторных лекарственных средств, характеризующихся высоким уровнем эффективности и уменьшением побочных эффектов, предназначенных для терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы организма [5, 6, 7].

Пептид KED обладает вазопротекторными свойствами, характеризуется широким спектром действия. Это соединение в комплексе со стандартными терапевтическими схемами с большой долей успеха используют при такой патологии, как атеросклероз. KED позволяет улучшить кровообращение в тканях мозга, нормализовать память, усилить интеллектуальные способности [8, 9]. При назначении пептида установлено повышение резистентности микрососудов кожного покрова у пациентов, имеющих в анамнезе гиповитаминоз [10, 11]. Дополнительно выявлен процесс нормализации циркуляции крови по капиллярам у крыс, болеющих пародонтитом, при введении пептида KED в виде инъекций [8]. Несмотря на широкий спектр применения пептида KED, молекулярные механизмы, лежащие в основе действия этого соединения, не изучены до конца на современном этапе.

Цель исследования – изучить влияние пептида KED на экспрессию коннексина и сиртуина при атеросклерозе и рестенозе у людей пожилого возраста.

Материалы и методы исследования. Для получения и создания культур клеток, используемых в исследовании, нормальные ткани аорты, в которых не были обнаружены патологические изменения, были изъятые из тела эмбриона человека на 21 неделе гестации в НИИ акушерства и гинекологии им Д.О. Отта (Санкт-Петербург). Материал аорты человека с признаками атеросклеротических изменений (4 фрагмента диаметром по 0,2 см) получили во время операции по аортокоронарному шунтированию от больного пожилого возраста (68 лет). Для исследования клеток аорты человека с при-

знаками рестеноза (4 фрагмента ткани диаметром по 0,2 см) материал получили в ходе операции аортокоронарного шунтирования на сердце пациента пожилого возраста (71 года), осуществляемой в отделении кардиохирургии 1-ой городской клинической больницы им. Е.Е. Волосевич.

К работе приступили спустя 4 часа после получения образцов, хранение осуществлялось в холодильнике при +6°C.

В стерильных условиях ламинарного шкафа образцы были извлечены из транспортировочной емкости и помещены в чашку Петри, имеющую диаметр 7 см. Далее образцы были трижды промыты сбалансированным солевым раствором Хенкса (HBSS), содержащим антибиотики (пенициллин, стрептомицин, в концентрации 5 мг/мл) для удаления следов крови и секрета.

Под лупой (x10) было проведено максимально возможное отделение слоя эндотелиальных клеток (в пределах tunica intima) из пограничной зоны атеросклеротического повреждения. Стерильными ножницами материал разрезали на небольшие кусочки (объемом 1-2 мм³). Полученные кусочки переместили в центрифужные пробирки объемом по 15 мл, добавили 10 мл HBSS с 0,2% раствором коллагеназы I (Gibco, активность 205 ед./мг). 30 секунд пробы откручивали на вотрексе. Затем ткани инкубировали в термостате при 37°C в течение 20 минут. Агрегаты клеток, полученные после инкубации, диспергировали путем пропускания их через пипетку (пипетировали). В течение 5 минут осаждали содержащий клетки супернатант в объеме 8 мл. Пробы центрифугировали в течение 5 мин при 400 g. Затем надосадочную жидкость удаляли, растворяли осадок в 2 мл среды M199, содержащей 10% эмбриональную бычью сыворотку и антибиотик. Выделение повторяли циклически, в течение 3 раз, растворенный осадок собирали в отдельную пробирку.

Жизнеспособность клеток оценивали с использованием трипанового синего. Краситель прибавляли к 2 мл аликвоты, отобранной из 6 мл накопленных клеток, в соотношении 1:1. Подсчитывали число живых клеток с помощью камеры Горяева.

Культуральная среда включала в себя 87,5% среды M199, 10% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS), 1% PES, 1,5% NEPES, L-глутамин. Первичную культуру выделяли в чашках Петри (Sarstedt), покрытых предварительно раствором фибриногена (Gibco). Дальнейшее культивирование осуществлялось в обработанных флаконах объемом 50 мл (Sarstedt, 25 см²). Затем выращивали клетки при добавлении по 5 мл культуральной среды на один флакон и 3 мл культуральной среды на 1 чашку Петри (диаметр 3,5 см). При использовании 24-луночного планшета добавляли по 1 мл среды в каждую лунку.

По прошествии 5-7 дней первичная культура достигала стадии монослоя, проводили ее пересевания. Еще через 3 дня, на 4-й осуществляли пассирование, в это время культура находилась в виде монослоя. При культивировании клеток проводили до 3 пассажей. Пептид KED добавляли к культуральной среде при каждом пересевании в концентрации 20 нг/мл.

В работе был использован пептид KED, представляющий собой стерильный раствор, помещенный в ампулы, концентрация соединения составила 100 мкг в 1 мл. Для введения в культуры клеток ампульный раствор разводили до концентрации 20 нг/мл для диссоциированного культивирования, т.к. ранее было показано, что данная концентрация является физиологической для организма и максимально эффективной.

Для проведения иммуноцитохимического исследования были применены первичные моноклональные антитела Connexin 37 (Dako, USA) и Sirtuin (Sirt) – 1 (Abcam, UK). Инкубация с первичными антителами проходила 60 мин. Со вторичными антителами, конъюгированными с флуорохромом Alexa Fluor 567 (1:1000, Abcam), пробы инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре, в темноте (красное свечение). В случае использования флуорохрома Alexa Fluor 488 (1:1000, Abcam) инкубацию клеток осуществляли в течение 30 минут при комнатной температуре, в темноте (зе-

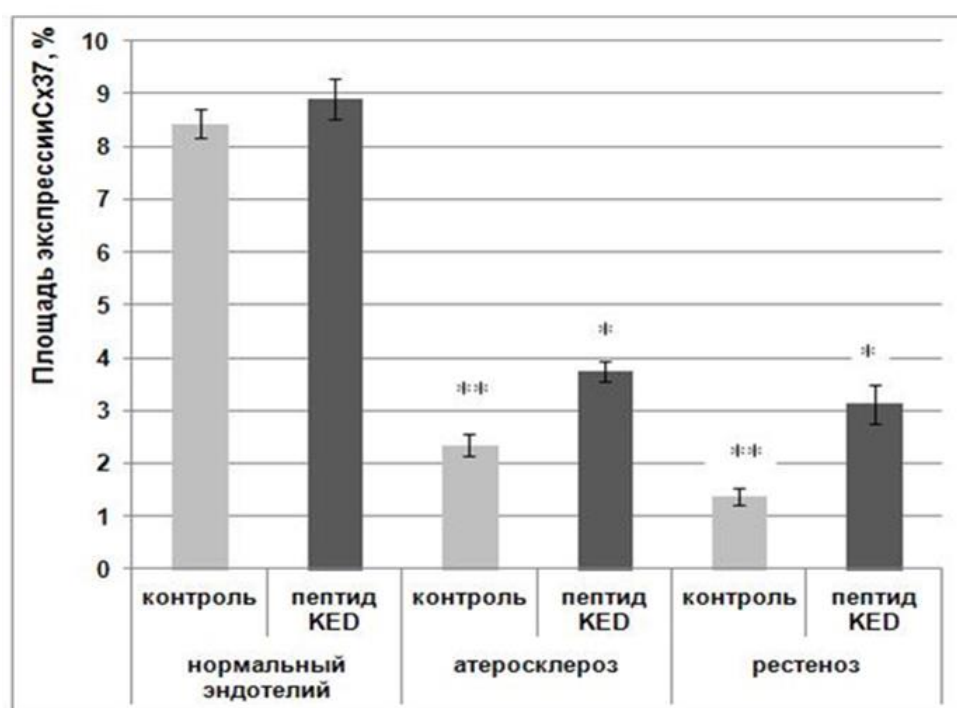
леное свечение). В конце готовые препараты помещали под покровные стекла в монтирующую среду Dako Fluorescent Mounting Medium (Dako, США).

Результаты иммуноцитохимического окрашивания оценивали с помощью морфометрического исследования. Компьютерный анализ микроскопических изображений осуществляли с применением системы, включающей в себя микроскоп Olympus BX40, цифровую камеру Olympus, персональный компьютер на основе Intel Pentium 5, программное обеспечение «Videotest Morphology 5.2». Из каждой пробы изучали по 5 полей зрения при увеличении x200.

Измеряли площадь экспрессии, как отношение площади, на которой находились иммунопозитивные клетки, к общей площади клеток в поле зрения. Данный показатель выражали в процентном отношении для маркеров с цитоплазматическим окрашиванием. Дополнительно рассчитывали отношение площади с иммунопозитивными ядрами к общей площади ядер в поле зрения для маркеров с ядерной экспрессией.

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики. С помощью программы Statistica 11,0 рассчитывали среднее арифметическое, стандартное отклонения и доверительный интервал. Для определения вида распределения применяли критерий Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk's W-test), использовали множественное сравнение с помощью критерия Манна-Уитни. Критерий Стьюдента применяли в отношении групп с незначительным разбросом значений. Критический уровень достоверности нулевой гипотезы (об отсутствии различий) принимали равным 0,01.

Результаты и их обсуждение. В ходе эксперимента было установлено, что в культуре клеток, полученных из нормального эндотелия, экспрессия молекул Connexin 37 составила $8,4 \pm 0,3\%$. В пробах с добавлением пептида KED площадь экспрессии достоверно не отличалась от контроля, и составила $8,9 \pm 0,4\%$ (рис. 1).



* - $p < 0,01$ по сравнению с соответствующим контролем;

** - $p < 0,01$ по сравнению с группой «контроль, нормальный эндотелий, без добавления пептида» (сравнение между группами проведено по критерию Стьюдента).

* - $p < 0.01$ compared with the corresponding control;

** - $p < 0.01$ compared with the “control, normal endothelium, without the addition of peptide” group (comparison between groups was carried out according to Student's criterion).

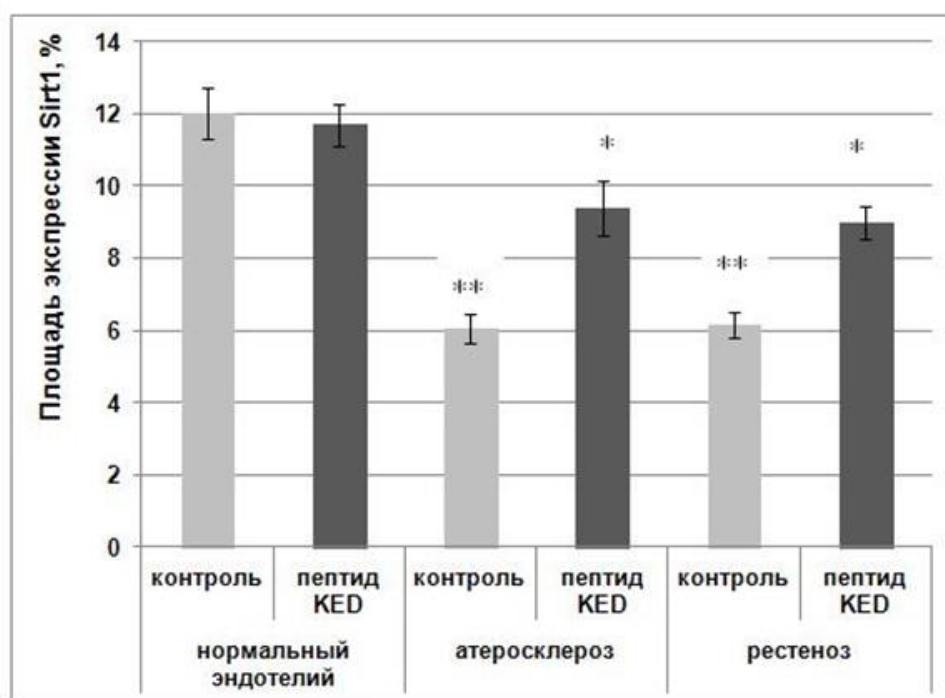
Рис. 1. Площадь экспрессии Connexin 37 в культуре эндотелия в норме, при атеросклерозе и рестенозе

Fig. 1. The area of expression of Connexin 37 in endothelial culture is normal, in atherosclerosis and restenosis

В контрольных пробах эндотелиальных клеток, собранных от пациента с признаками атеросклероза, установлено снижение площади экспрессии Connexin 37 в 3,6 раза по сравнению с нормальным эндотелием ($2,3 \pm 0,2\%$). При добавлении пептида KED к данным клеткам экспрессии Connexin 37 в культуре достоверно снижалась в 1,6 раза ($3,6 \pm 0,2\%$) относительно контроля. Площадь экспрессии Connexin 37 в культуре клеток эндотелия с признаками

рестеноза составила $1,4 \pm 0,2\%$, снизилась в 6,2 раза по сравнению с нормальными клетками. Добавление пептида KED способствовало повышению данного показателя в 2,3 раза до значения $3,1 \pm 0,4\%$.

В культуре нормальных эндотелиоцитов значение площади экспрессии фактора транскрипции Sirt1 в контроле составило $12,0 \pm 0,7\%$. Под действием пептида KED данное значение достоверно не изменялось и было равно $11,7 \pm 0,6\%$ (рис. 2).



* - $p < 0,01$ по сравнению с соответствующим контролем;

** - $p < 0,01$ по сравнению с группой «контроль, нормальный эндотелий, без добавления пептида» (сравнение между группами проведено по критерию Манна-Уитни).

* - $p < 0.01$ compared with the corresponding control;

** - $p < 0.01$ as compared with the “control, normal endothelium, without peptide addition” group (comparison between groups was carried out according to the Mann-Whitney test).

Рис. 2. Площадь экспрессии Sirt1 в культуре эндотелия в норме, при атеросклерозе и рестенозе
Fig. 2. The area of expression of Sirt1 in culture of the endothelium is normal, in atherosclerosis and restenosis

В контрольной культуре клеток с атеросклеротическими изменениями площадь экспрессии молекул Sirt1 снизилась в 2 раза по сравнению с нормальным эндотелием и составила $6,0 \pm 0,4\%$. Под влиянием KED экспрессии Sirt1 в культуре пораженной атеросклерозом клеток возрастала в 1,5 раза по сравнению с нормой ($9,4 \pm 0,8\%$) (рис. 2). В контрольной культуре эндотелия пациента с рестенозом площадь экспрессии Sirt1 составила $6,2 \pm 0,4\%$, в 2 раза ниже по отношению к нормальному эндотелию. Под влиянием пептида KED этот показатель возрастал в 1,5 раза относительно контроля и составил $9,0 \pm 0,5\%$.

Ранее было выдвинуто предположение, что возрастное снижение экспрессии сиртуинов Sirt1 и Sirt6 может служить маркером старения сердечно-сосудистой системы и предиктором развития атеросклероза

[5, 12, 13, 14, 15, 16]. Полученные данные подтверждают эту гипотезу, т.к. выявлено снижение экспрессии Sirt1 в эндотелии, пораженном атеросклерозом. Кроме того, ускоренное восстановление синтеза этого белка, принимающего участие в процессах репарации ДНК, вызываемое приемом пептида KED, доказывает предполагаемую ранее действенность его использования в группе пожилых пациентов с заболеваниями сердца и сосудов.

В другой работе было показано снижение синтеза коннексина Cx37 при поражении аорты человека атеросклеротического характера и нарушении межклеточных взаимодействий, что подтверждено в следующих работах [2, 17]. Полученные результаты полностью согласуются с этими данными и указывают на роль пептида KED

в восстановлении межклеточных контактов эндотелиоцитов.

Однако наибольший эффект пептид KED оказывал на экспрессию Endothelin1, снижая экспрессию этого белка до нормальных значений. Предполагается, что один из основных механизмов, лежащих в основе действия пептида KED, основан на регуляция экспрессии гена эндотелина-1. Запускаемый каскад реакций предотвращает развитие изменений, типичных для атеросклероза и рестеноза. Ранее показано, что низкие концентрации Endothelin-1 в норме обладают сосудорасширяющим эффектом, более высокие – активизируют рецепторы мембраны гладкомышечных клетках, вызывают вазоконстрикцию [6, 18, 19, 20].

Заключение. Один и тот же фактор участвует реализации двух противоположных сосудистых реакций, основанных на разных механизмах. Высокие уровни Endothelin1 в плазме крови наблюдаются при атеросклерозе, ишемии и гипертензии, следовательно, пептид KED, способствующий снижению синтеза этой молекулы, будет способствовать профилактике развития этой сердечно-сосудистой патологии.

Список литературы

1. Роль вазоактивного пептида в лечении хронической артериальной недостаточности нижних конечностей / К.В. Китаев [и др.] // Успехи геронтологии. 2013. Т. 26, N 2. С. 292-296.
2. Молекулярные аспекты старения сосудов in vitro / К.Л. Козлов [и др.] // Молекулярная медицина. 2015. N 3. С. 53-56.
3. Башкирева А.С., Артамонова В.Г. Пептидергическая коррекция невротических состояний у водителей грузового автотранспорта // Успехи геронтологии. 2012. Т. 25, N 4. С. 718-728.
4. Эффективность пептидного биорегулятора сосудов в комплексной терапии васкулогенной эректильной дисфункции у лиц старших возрастных групп / К.В. Китаев [и др.] // Успехи геронтологии. 2014. Т. 27, N 1. С. 156-159.
5. Экспрессия сигнальных молекул в эндотелии аорты при старении и атеросклерозе / М.А. Пальцев [и др.] // Молекулярная медицина. 2015. N 5. С. 12-15.
6. Солдатов В.М., Козлов К.Л., Линькова Н.С. Возрастные особенности экспрессии сигнальных молекул в эндотелии сосудов человека и их роль в развитии сердечно-сосудистой патологии // Молекулярная медицина. 2015. N 6. С. 33-37.
7. Молекулярные аспекты антиатеросклеротического действия коротких пептидов / В.Х. Хавинсон [и др.] // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2014. N 3. С. 185-189.
8. Tripeptides restore the number of neuronal spines under conditions of in vitro modeled alzheimer's disease / N.A. Kraskovskaya [et al.] // Bull Exp Biol Med. 2017. Vol. 163(4). P. 550-553. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-017-3882-z>
9. van Grootel R.W., Strachinaru M., Menting M.E. In-depth echocardiographic analysis of left atrial function in healthy adults using speckle tracking echocardiography and volumetric analysis // Echocardiography. 2018. Vol. 10(1). P. 14-17. DOI: <https://doi.org/10.1111/echo.14174>
10. Laird D.W., Lampe P.D. Therapeutic strategies targeting connexins // Nat Rev Drug Discov. 2018. N 12. P. 10-20. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.138>
11. Factors influencing the choice of treatment modality for individual patients with varicose veins / B. Campbell [et al.] // Ann R Coll. Surg. Engl. 2017. N 6. P. 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1308/rcsann.2017.0122>
12. Modernized classification of cardiac antiarrhythmic drugs / M. Lei [et al.] // Circulation. 2018. Vol. 138(17). P. 1879-1896. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035455>
13. McKenney J. R. Statins // Clinical lipidology: a companion to Braunwald's Heart Disease. 2015. N 1. P. 227-256. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-141605469-6.50026-3>
14. The role of endothelial dysfunction and inflammation in chronic venous disease / R. Castro-Ferreira [et al.] // Ann Vasc. Surg. 2018. N 46. P. 380-393. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.avsg.2017.06.131>
15. D'Onofrio N., Servillo L., Balestrieri M.L. SIRT1 and SIRT6 Signaling Pathways in Cardiovascular Disease Protection // Antioxid Redox Signal. 2018. Vol. 28(8). P. 711-732. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7178>
16. Endothelial SIRT1 prevents adverse arterial remodeling by facilitating HERC2-mediated degradation of acetylated LKB1 / B. Bai [et al.] // Oncotarget. 2016. N 7. P. 39065-39081. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9687>
17. Defourny J., Thelen N., Thiry M. Cochlear connexin 30 homomeric and heteromeric channels exhibit distinct assembly mechanisms // Mech

Dev. 2018. N 5. P. 25-37. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.mod.2018.10.001>

18. Rader D.J. Human genetics of atherothrombotic disease and its risk factors // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2015. Vol. 35(4). P. 741-747. DOI:

<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.115.305492>

19. Pitha J., Kralova L.I., Hubacek J.A. Smoking impairs and circulating stem cells favour the protective effect of the T allele of the connexin37 gene in ischemic heart disease // *Atherosclerosis*. 2016. N 244. P. 73-78. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.11.007>

20. Bindu S., Pillai V.B., Gupta M.P. Role of sirtuins in regulating pathophysiology of the heart // *Trends Endocrinol Metab.* 2016. N 27. P. 563-573. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.tem.2016.04.015>

References

1. Kitachev KV, Sazonov AB, Kozlov KL, et al. [The role of the vasoactive peptide in the treatment of chronic arterial insufficiency of the lower extremities]. *Successes of gerontology*. 2013;26(2):292-296. Russian.

2. Kozlov KL, Soldatov VM, Poliakova VO, et al. [Molecular aspects of vascular aging in vitro]. *Molecular medicine*. 2015;3:53-56. Russian.

3. Bashkireva AS, Artamonova VG. [Peptidergic correction of neurotic conditions in truck drivers]. *Successes of gerontology*. 2012;25(4):718-728.

4. Kitachev KV, Sazonov AB, Kozlov KL, et al. [Efficacy of a peptide bioregulator of blood vessels in the complex therapy of vasculogenic erectile dysfunction in older age groups]. *Successes of gerontology*. 2014;27(1):156-159.

5. Palzhev MA, Soldatov VM, Kozlov KL, et al. [Expression of signaling molecules in aortic endothelium during aging and atherosclerosis]. *Molecular medicine*. 2015;5:12-15.

6. Soldatov VM, Kozlov KL, Linkova NS. [Age-related features of the expression of signaling molecules in the human vascular endothelium and their role in the development of cardiovascular pathology]. *Molecular medicine*. 2015;6:33-37.

7. Havinson VH, Linkova NS, Elashkina EV, et al. [Molecular aspects of the anti-atherosclerotic action of short peptides]. *Cell technology in biology and medicine*. 2014;3:185-189.

8. Kraskovskaya NA, Kukanova EO, Linkova NS, et al. Tripeptides restore the number of neuronal spines under conditions of In vitro modeled alzheimer's disease. *Bull Exp Biol Med*.

2017;163(4):550-553.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-017-3882-z>

9. van Grootel RW, Strachinaru M, Menting ME. In-depth echocardiographic analysis of left atrial function in healthy adults using speckle tracking echocardiography and volumetric analysis. *Echocardiography*. 2018;10(1):14-17. DOI:
<https://doi.org/10.1111/echo.14174>

10. Laird DW, Lampe PD. Therapeutic strategies targeting connexins. *Nat Rev Drug Discov*. 2018;12:10-20. DOI:
<https://doi.org/10.1038/nrd.2018.138>

11. Campbell B, Chinai N, Hollering P, et al. Factors influencing the choice of treatment modality for individual patients with varicose veins. *Ann R Coll. Surg. Engl.* 2017;6:1-7. DOI:
<https://doi.org/10.1308/rcsann.2017.0122>

12. Lei M, Wu L, Terrar DA, et al. Modernized classification of cardiac antiarrhythmic drugs. *Circulation*. 2018;138(17):1879-1896. DOI:
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035455>

13. McKenney JR. Statins. *Clinical lipidology: a companion to Braunwald's Heart Disease*. 2015;1:227-256. DOI:
<https://doi.org/10.1016/B978-141605469-6.50026-3>

14. Castro-Ferreira R, Cardoso R, Leite-Moreira A, et al. The role of endothelial dysfunction and inflammation in chronic venous disease. *Ann Vasc. Surg.* 2018;46:380-393. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.avsg.2017.06.131>

15. D'Onofrio N, Servillo L, Balestrieri ML. SIRT1 and SIRT6 Signaling Pathways in Cardiovascular Disease Protection. *Antioxid Redox Signal*. 2018;28(8):711-732. DOI:
<https://doi.org/10.1089/ars.2017.7178>

16. Bai B, Man AW, Yang K, et al. Endothelial SIRT1 prevents adverse arterial remodeling by facilitating HERC2-mediated degradation of acetylated LKB1. *Oncotarget*. 2016;7:39065-39081. DOI:
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.9687>

17. Defourny J, Thelen N, Thiry M. Cochlear connexin 30 homomeric and heteromeric channels exhibit distinct assembly mechanisms. *Mech Dev*. 2018;5:25-37. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.mod.2018.10.001>

18. Rader DJ. Human genetics of atherothrombotic disease and its risk factors. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*; 2015;35(4):741-747. DOI:
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.115.305492>

19. Pitha J, Kralova LI, Hubacek JA. Smoking impairs and circulating stem cells favour the protective effect of the T allele of the connexin37 gene in ischemic heart disease. *Atherosclerosis*.

2016;244:73-78.

DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.11.007>

20. Bindu S, Pillai VB, Gupta MP. Role of sirtuins in regulating pathophysiology of the heart. Trends Endocrinol Metab. 2016;27:563-573. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2016.04.015>

Информация об авторе

Иван Игоревич Болотов, научный сотрудник лаборатории возрастной патологии сердечно-сосудистой системы отдела клинической геронтологии и гериатрии, АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», E-mail: i.bolotov26@yandex.ru.

Information about the author

Ivan I. Bolotov, Researcher of the Laboratory of Pathology of the Cardiovascular System of the Department of Clinic Gerontology, St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, E-mail: i.bolotov26@yandex.ru.

Статья поступила в редакцию 6 сентября 2018 г.
Receipt date 2018 September 6.

Статья принята к публикации 10 октября 2018 г.

Accepted for publication 2018 October 10.



УДК 618.39-079.6

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-8

Е.В. Енькова,
О.В. Хоперская

Ценность определения концентраций кальцидиола
и сосудисто-эндотелиального фактора роста для прогнозирования
неразвивающейся беременности

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко»,
ул. Студенческая, д. 10, г. Воронеж, 394036, Российская Федерация
Автор для переписки: О.В. Хоперская (smv250587@mail.ru)

Информация для цитирования: Енькова Е.В., Хоперская О.В. Ценность определения концентраций кальцидиола и сосудисто-эндотелиального фактора роста для прогнозирования неразвивающейся беременности // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 4. С. 69-78. [Enkova EV, Khoperskaya OV. The value of determining concentrations of calcidiol and vascular endothelial growth factor to predict non-developing pregnancy. Research Results in Biomedicine. 2018;4(4):69-78 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-8

Аннотация

Актуальность: Неразвивающаяся беременность – одна из наиболее сложных медико-социальных проблем современного акушерства и гинекологии, не имеющая тенденции к снижению. Перенесенная неразвивающаяся беременность является предиктором неблагоприятных исходов последующих беременностей, вплоть до привычного невынашивания. Неразвивающаяся беременность является многофакторным и полиэтиологическим осложнением гестации, что диктует необходимость комплексной оценки вероятности возникновения патологического состояния в каждом конкретном случае. **Цель исследования:** Оценка факторов, способствующих формированию неразвивающейся беременности, для выявления пациенток группы риска. Определение статуса витамина D и концентрации СЭФР в плазме крови пациенток с неразвивающейся беременностью как информативных маркеров для прогнозирования патологического состояния. **Материалы и методы:** В исследовании приняли участие 116 пациенток: 76 пациенток с неразвивающейся беременностью и 40 – с физиологически протекающей беременностью. Собраны сведения о репродуктивном и соматическом здоровье женщин, их социальном статусе. Были исследованы уровни невротизации и тревожности – шкалы Хека и Хесса и Ч.Д. Спилберга, Ю.Л. Ханина. Определены типы акцентуации темперамента согласно тесту Г. Шмишека и К. Леонгарда. Уровень перинатального риска был определен по шкале В.Е. Радзинского, С.А. Князева, И.Н. Костина (2011). Иммуноферментный анализ 25-OH Vitamin D плазмы крови проводили с использованием набора реагентов ELISA, EUROIMMUN AG (Германия), СЭФР - human VEGF-A ELISA с применением реактивов фирмы Thermo Fisher Scientific (США). **Результаты:** Определены факторы, способствующие развитию изучаемого патологического состояния. Установлено, что дефицит витамина D является фактором риска возникновения неразвивающейся беременности. При снижении концентрации кальцидиола плазмы ниже 10 нг/мл вероятность развития неразвивающейся беременности увеличивается в 4.74 раз. Уро-

вень СЭФР у пациенток с неразвивающейся беременностью в 5.1 раза выше по сравнению с показателем группы контроля. **Заключение:** Определение статуса витамина D и концентрации СЭФР является дополнительным диагностическим методом, позволяющим прогнозировать вероятность возникновения неразвивающейся беременности. Выявление пациенток группы риска по формированию неразвивающейся беременности возможно при помощи тщательного сбора анамнеза, выяснения социальных факторов, способствующих возникновению патологического состояния и оценки психоэмоционального статуса. Пациенткам группы риска по формированию изучаемого осложнения гестации целесообразно определение уровня кальцидиола плазмы с целью своевременной коррекции гиповитаминоза.

Ключевые слова: неразвивающаяся беременность; витамин D; СЭФР; кальцидиол; ангиогенез

Elena V. Enkova,
Olga V. Khoperskaya

**The value of determining concentrations of calcidiol
and vascular endothelial growth factor to predict non-developing
pregnancy**

Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko,
10 Student St., Voronezh, 394036, Russia

Corresponding author: Olga V. Khoperskaya (smv250587@mail.ru)

Abstract

Background: Non-developing pregnancy is one of the most difficult medical and social problems of modern obstetrics and gynecology, which has no tendency to decrease. Previously occurred non-developing pregnancy is a predictor of adverse outcomes of subsequent pregnancies, up to the usual miscarriage. Non-developing pregnancy is a multifactorial and polyetiological complication of gestation, which necessitates a comprehensive assessment of the probability of a pathological condition in each case. **The aim of the study:** Assessment of factors contributing to the formation of non-developing pregnancy to identify patients related to a risk group. Determining the status of vitamin D and plasma serum concentration of VEGF in patients with non-developing pregnancy as informative markers for predicting a pathological condition. **Materials and methods:** The study involved 116 patients: 76 patients with non-developing pregnancy and 40 patients with physiological pregnancy. The information about reproductive and somatic health of women, their social status was collected. The levels of neuroticism and anxiety were explored using the scale of Hake and Hess and the scale of Ch. D. Spielberg and Yu. L. Khanin. The types of accentuation of temperament were identified based on the G. Smishek and K. Leongard test results. The level of perinatal risk was determined using the scale of V. E. Radzinsky, S. A. Knyazev, I. N. Kostin (2011). The enzyme immunoassay 25-OH Vitamin D blood plasma was performed using a set of reagents ELISA, EUROIMMUN AG (Germany), VEGF – human VEGF-A ELISA using reagents from Thermo Fisher Scientific (USA). **Results:** The factors contributing to the development of the studied pathological condition were determined. Vitamin D deficiency has been found to be a risk factor for non-developing pregnancy. With a decrease of calcidiol concentration below 10 ng / ml in the plasma, the probability of developing a non-developing pregnancy increases by 4.74 times. The level of VEGF in patients with non-developing pregnancy is 5.1 times higher than in the control group. **Con-**

clusion: Determining the status of vitamin D and the concentration of VEGF is an additional diagnostic method to predict the likelihood of non-developing pregnancy. Identification of patients risking the development of non-developing pregnancy is possible with the help of a thorough history collection, clarification of social factors contributing to the emergence of a pathological condition and evaluation of psychoemotional status. For timely correction of hypovitaminosis, patients with a high risk of developing the studied complication of gestation are recommended to have their level of plasma calcidiol tested.

Keywords: non-developing pregnancy; vitamin D; VEGF; calcidiol; angiogenesis

Введение. Невынашивание беременности, в частности неразвивающаяся беременность, по-прежнему остается одной из наиболее острых проблем практического акушерства. Несмотря на многочисленные эффективные методы диагностики и лечения, разработанные в последнее время, статистика репродуктивных потерь не имеет тенденции к снижению [1, 2]. Из общего числа клинически установленных беременностей самопроизвольно прерываются около 25%, невынашивание в анамнезе – предиктор неблагоприятных перинатальных исходов. Профилактика репродуктивных потерь и улучшение перинатальных исходов – важнейшие направления исследований в сфере акушерства и гинекологии.

Неразвивающаяся беременность – одна из наиболее сложных медико-социальных проблем современного акушерства и гинекологии. В структуре невынашивания частота данной патологии достаточно высока (45-88,6%), а традиционное лечение малоэффективно, так как в большинстве случаев точные этиопатогенетические факторы, способствующие остановке развития беременности, остаются неустановленными [2].

Неразвивающаяся беременность является многофакторным и полиэтиологическим осложнением гестации, что диктует необходимость комплексной оценки вероятности возникновения патологического состояния в каждом конкретном случае. В последние годы обсуждаются роли витамина D и сосудисто-эндотелиального фактора роста (СЭФР) в инициации и поддержании физиологической беременности, в связи с чем интересна их оценка и при патологическом течении гестации [3, 4, 5, 6, 7].

Причин, приводящих к возникновению неразвивающейся беременности великое множество. К основным относятся анатомические изменения и функциональные нарушения маки, эндокринные нарушения (недостаточность лютеиновой фазы, гиперандрогения, синдром поликистозных яичников, гипотиреоз, аутоиммунный тиреоидит, ожирение), тромбофилические факторы (мутации в генах фактора V, протромбина, фермента метилентетрагидрофолатредуктазы, генетически обусловленный дефицит антифосфолипидного синдрома, аутоиммунные нарушения (антифосфолипидный синдром, аутоиммунная стимуляция к хорионическому гонадотропину, прогестерону), генетическая патология, инфекционные причины, приводящие впоследствии к хроническому эндометриту или синдрому регенераторно-пластической недостаточности эндометрия, соматические заболевания матери, мужской фактор. Выделяют также ряд социальных факторов, способствующих развитию неразвивающейся беременности: возраст матери старше 30 лет, отца – старше 40, неправильное питание, вредные привычки, несоблюдение режима труда и отдыха, работа в ночные смены, употребление кофеина в высоких дозах [8-16].

В последнее время говорят о дефиците витамина D, как о независимом факторе риска осложнений беременности. По данным Е.С. Шелеповой, концентрация кальцидиола в сыворотке крови матери в первом триместре беременности ниже 50 нмоль/л ассоциирована с увеличением частоты самопроизвольного прерывания беременности более чем в два раза [17]. Дефицит витамина D установлен у 77-98% пациенток, страдающих бесплодием. Согласно результатам, полученным X. Zhao et al. (2017), необходи-

мым условием полноценного формирования фетоплацентарного комплекса является концентрация кальцидиола плазмы не ниже 40 нг/мл [18].

В Российской Федерации распространенность гиповитаминоза D, по данным разных исследователей, варьирует от 45 до 98%, причем чаще страдают женщины репродуктивного возраста, в группе риска беременные и кормящие.

Российская ассоциация эндокринологов классифицирует концентрацию кальцидиола в крови ниже 20 нг/мл как дефицит, ниже 10 нг/мл – тяжелый дефицит, а от 20 до 30 нг/мл – как недостаточность [19].

Положительное влияние витамина D на репродуктивную функцию обусловлено его внескелетными эффектами: участием в стероидогенезе прогестерона, эстрадиола, антимюллерова гормона, иммуномодуляторным действием за счет способности снижать цитотоксичность натуральных киллеров и уменьшать продукцию провоспалительных цитокинов. Витамин D способен воздействовать на транскрипцию генов сосудисто-эндотелиального фактора роста, стимулируя ангиогенез [20, 21].

Дефекты ремоделирования сосудов децидуальной ткани и дифференцировки трофобласта ассоциированы с тяжелыми гестационными осложнениями, включая неразвивающуюся беременность. СЭФР играет важную роль в ангиогенезе и развитии плаценты. Было установлено, что у женщин с неразвивающейся беременностью экспрессия его в ворсинах хориона и децидуальной оболочке значительно ниже в сравнении с женщинами с физиологическим течением беременности [21]. Наличие патологического аллеля 936T гена СЭФР увеличивает вероятность формирования неразвивающейся беременности [20].

Во время эмбрионального развития СЭФР является сигнальным цитокином, который стимулирует васкулогенез и ангиогенез. Инвазия трофобласта в материнские спиральные артерии приводит к созданию циркуляции с высоким потоком и низким сосудистым сопротивлением. Это обеспечивается за счет продукции вазоактивных веществ, таких как СЭФР и, в меньшей степе-

ни плацентарный фактор роста, которые вызывают ангиогенез и активируют эндотелиальную синтетазу окиси азота, приводящую к образованию оксида азота, расширяющего сосуды. Недостаточная инвазия трофобласта приводит к снижению плацентарной перфузии и окислительному стрессу, а также продукции провоспалительных цитокинов. СЭФР индуцирует пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток, снижает их апоптоз, увеличивает сосудистую проницаемость и ускоряет протеолиз, обеспечивает децидуализацию, имплантацию и плацентацию. При снижении экспрессии СЭФР увеличивается сопротивление сосудов матки, угнетается плацентарный ангиогенез, снижается кровоснабжение, что приводит к гибели эмбриона или фетоплацентарной недостаточности [4, 20, 21].

Учитывая важность вышеперечисленных функции витамина D и СЭФР и наличие литературных данных, свидетельствующих об изменении их концентраций при осложнениях гестации, их количественное определение представляет научный интерес.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 116 пациенток: 76 пациенток с неразвивающейся беременностью (основная группа) и 40 – с физиологически протекающей беременностью, обратившихся в БУЗ ВО «ВГКБ№3» для прерывания беременности (группа контроля). Срок гестации варьировал от 5 до 11,5 недель. Длительность нахождения погибшего эмбриона/плода не превышала 7 дней, что было подтверждено данными УЗ-диагностики.

Всем женщинам, обратившимся в стационар за медицинской помощью, был произведен в полном объеме стандарт обследования и оказания помощи с учетом нозологии (согласно приказу №572 н) и дополнительно осуществлен забор крови для иммуноферментного анализа.

Были собраны сведения о репродуктивном здоровье женщины (начале и характере менструальной функции, количестве половых партнеров, перенесенных заболеваниях, предшествующих беременностях, наличии аборт и внутриматочных вмешательствах), соматическом статусе и семейной предрасположенности к наличию экстре-

нительных заболеваний, социальном уровне (образование, бытовые условия, качество питания, взаимоотношения с партнером, условия труда и наличие профессиональных вредностей). Проводилось анкетирование согласно специально разработанным для научного исследования опросникам. Были исследованы уровни невротизации и тревожности – шкалы Хека и Хесса и Ч.Д. Спилберга, Ю.Л. Ханина. Определены типы акцентуации темперамента согласно тесту Г. Шмишека и К. Леонгарда. Уровень перинатального риска был определен по шкале перинатального риска В.Е. Радзинского.

Определение 25-ОН витамина D плазмы крови и СЭФР проводилось на базе лаборатории ООО «Новые медицинские технологии» с использованием иммуноферментных наборов: ELISA, EUROIMMUN AG (Германия, Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2012/12311 от 07.06.2012 г.) и human VEGF-A ELISA с применением реактивов фирмы Thermo Fisher Scientific (США).

Результаты и их обсуждение. Возраст пациенток обеих групп был сопоставим, составив $29,99 \pm 0,5$ лет в основной группе и $29,83 \pm 0,5$ лет – в контрольной. Возраст полового партнера старше 40 лет в основной группе был установлен в 25% случаев, в группе контроля – в 12,5% ($p < 0,05$).

Средний срок остановки развития беременности составил 6,93 и 7,83 недели соответственно.

В основной группе 48 пациенток рожавшие (63,16%), 72,92% из них имели одни роды в анамнезе, 27,18% – повторные. Родоразрешение путем кесарева сечения составил 35,42%, родов, осложненных инструментальным контролем полости матки – 6,25%. В анамнезе 33 (43,42%) женщин с неразвивающейся беременностью установлены медицинские аборт, у 14 из них – повторные (42,42%). В группе контроля 37 (92,5%) рожавших женщин, из них 72,97% имело в анамнезе двое и более родов. Аборт имело 47,5% пациенток, два и более – 31,58% из них. Родоразрешение путем кесарева сечения встречалось в 21,62% случаев ($p < 0,05$).

Избыточную массу тела имели 11,84% пациенток основной группы, ожирение I степени – 10,53%. В группе контроля ИМТ не превышал 30, ИМТ свыше 25 встречался в 7,5% случаев ($p < 0,05$).

Была исследована заболеваемость пациенток общими и гинекологическими заболеваниями. В основной группе была установлена более высокая частота эндокринной патологии (23,68% против 7,5%), заболеваний сердечно-сосудистой системы (28,95% против 12,5%), заболеваний кроветворной системы (15,79% против 7,5%), воспалительных заболеваний органов мочевыделительной системы (14,47% против 10%), аллергических реакций (23,68% против 12,5%), заболеваемости в детском возрасте, установленной анамнестически (38,16% против 15%). Частота заболеваемости дыхательной и пищеварительной систем была сопоставима. Однако пациентки основной группы болели ОРВИ за последний год в 1,5 раза чаще ($p < 0,05$) (рисунок 1). Интересно отметить, что и заболеваемость родственников первой линии также была выше.

Несвоевременное менархе в основной группе анамнестически установлено у 18,42% пациенток основной группы и у 2,5% пациенток группы контроля. Раннее начало половой жизни выявлено у 39,47% женщин в основной группе и у 22,50% – в группе контроля. В качестве метода контрацепции 6,58% пациенток из группы женщин с неразвивающейся беременностью использовали внутриматочные контрацептивы. Изменения вагинального биоценоза установлено в 69,74% случаев в основной группе и в 27,50% - в контрольной ($p < 0,05$).

Нарушения менструального цикла имели 18,42% пациенток основной группы и 5% – в контрольной, заболеваемость миомой матки – 18,42% и 10%, воспалительными заболеваниями органов малого таза – 63,16% и 33% соответственно ($p < 0,05$). Распространенность эндометриоза была сопоставима. Женщины группы контроля в анамнезе не страдали бесплодием и не переносили оперативных вмешательств на органах малого таза за исключением операций кесарева сечения и абортов (рисунок 2).

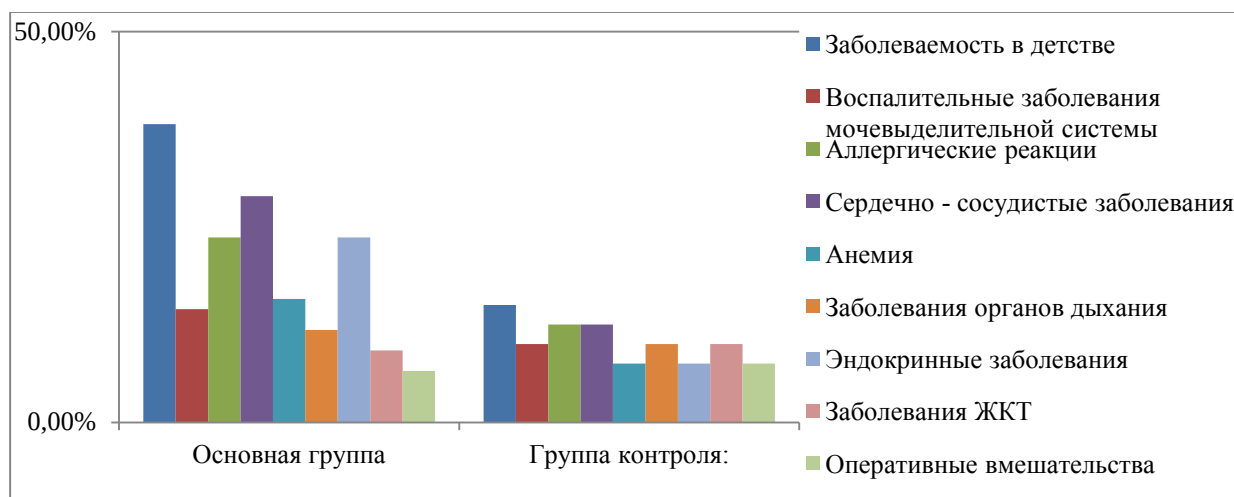


Рис. 1. Заболеваемость обследованных женщин по группам
Fig. 1. The incidence of diseases in the examined women in groups

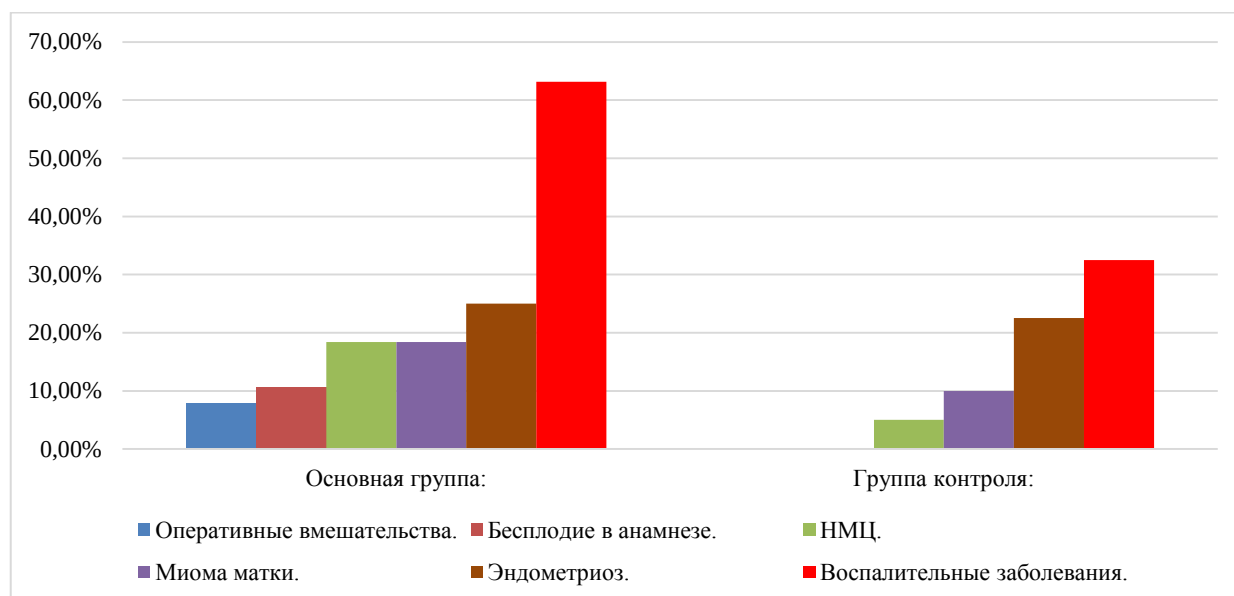


Рис. 2. Структура гинекологической заболеваемости
Fig. 2. The structure of gynecological morbidity

Средняя степень риска перинатальной патологии по шкале Радзинского В.Е., Князева С.А., Костина И.Н., 2009 в основной группе была выявлена у 43,42% женщин, тогда как в группе контроля – 12,50% ($p < 0,05$).

Большая часть женщин основной группы являлись работниками умственного труда и имели высшее образование, тогда как в группе контроля преобладали пациентки со средним образованием, работали только 32,5%. Взаимоотношения с партнером, материальная обеспеченность, социальное положение, отношения с родствен-

никами, согласно опросу, были лучше у пациенток основной группы. Воздействие стрессовых факторов было выражено интенсивно как в группе контроля, так и в основной группе. В то же время высокий уровень невротизации установлен у 40,8% пациенток основной группы и у 7,5% – группы контроля ($p < 0,05$). Аналогичные показатели личностной тревожности были установлены и по шкале тревоги Спилберга-Ханина. В основной группе, согласно опроснику Г. Шмишека, К. Леонгарда, 27,63% женщин имели тревожный, экзальтированный и эмоциональный типы акцентуации темперамента,

тогда как в группе сравнения данные типы акцентуаций были установлены лишь у 7,5% женщин ($p<0,05$).

Высокий уровень соматической и гинекологической заболеваемости, несвоевременное менархе, раннее начало половой жизни, наличие в анамнезе внутриматочных вмешательств, различные варианты нарушений микрофлоры влагалища и использование внутриматочной контрацепции, а также возраст отца старше 40 лет являются факторами риска возникновения неразвивающейся беременности. Высшее образование, умствен-

ный характер труда, высокие уровни тревожности и невротизации благоприятствуют развитию осложнений гестации. При этом в исследовании не было выявлено увеличения вероятности развития неразвивающейся беременности с худшей материальной обеспеченностью, фактом отсутствия замужества, плохими взаимоотношениями пациенток с партнерами и родственниками.

В сравниваемых группах были определены средние значения кальцидиола и СЭФР, результаты приведены в таблице.

Таблица

Результаты иммуноферментного исследования биологических жидкостей пациенток основной группы и группы контроля

Table

Results of enzyme immunoassay of biological fluids of patients in the main group and control group

Определяемый ИГХ – показатель	Основная группа (n=76)	Группа контроля (n=40)
25-ОН Vitamin D плазмы (ELISA, EUROIMMUN AG), нг/мл	18,02±1,11*	31,41±1,66
Сосудисто-эндотелиальный фактор роста (human VEGF-A ELISA), пг/мл	156,73±3,40*	30,73±4,47

Примечание: *достоверность различий между группами, $p^*<0,05$

Note: *significance of differences between groups, $p^*<0.05$

Гиповитаминоз D был установлен у 92,1% пациенток основной группы и у 62,5% женщин группы контроля: уровень кальцидиола плазмы менее 10 нг/мл был

выявлен у 32,89% женщин основной группы, в группе контроля – у 12,5%, от 10 до 20 нг/мл – у 34,21% и у 25% женщин соответственно ($p<0,05$) (рисунок 3).

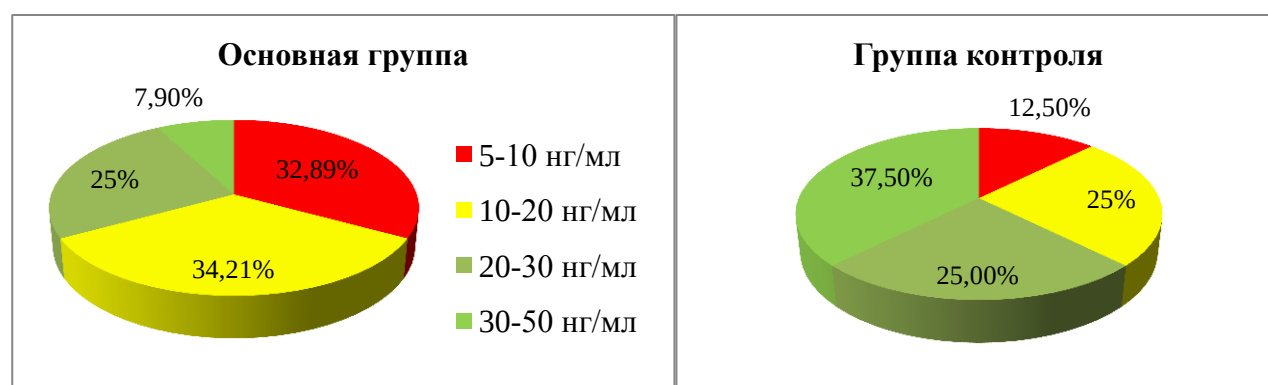


Рис. 3. Концентрация кальцидиола в исследуемых группах

Fig. 3. Calcidiol concentration in the studied groups

Был произведен расчет вероятности формирования неразвивающейся беременности в зависимости от концентрации каль-

цидиола плазмы. Установлено, что снижение кальцидиола плазмы ниже 10 нг/мл уве-

личивает вероятность развития неразвивающейся беременности в 4,74 раз ($p < 0,05$).

Исследование подтверждает имеющиеся литературные данные о распространенности гиповитаминоза и влиянии дефицита витамина D на прогноз беременности, что свидетельствует о важности исследования кальцидиола плазмы и своевременной профилактики дефицита и недостаточности [19]. Положительное воздействие витамина D на течение беременности объясняется его противовоспалительным и иммуномодулирующим эффектами, а также способностью регулировать ангиогенез, за счет влияния на транскрипцию генов сосудисто-эндотелиального фактора роста.

Уровень СЭФР у пациенток с неразвивающейся беременностью оказался в 5,1 раза выше по сравнению с показателем группы контроля ($p < 0,05$). Аналогичные данные были получены Лигидовой А.Т. (2011) при угрожающем выкидыше в первом триместре, где повышение уровня СЭФР ассоциировано с усилением роста сосудов хориона [14]. Повышение СЭФР является следствием активации компенсаторно-приспособительных реакций в ответ на гипоксию, сопровождающую развитие неразвивающейся беременности, направленной на усиление ангиогенеза.

Заключение. Выявление пациенток группы риска по формированию неразвивающейся беременности возможно при помощи тщательного сбора анамнеза, выяснения социальных факторов, способствующих возникновению патологического состояния и оценки психоэмоционального статуса.

Определение статуса витамина D и концентрации СЭФР является дополнительным диагностическим методом, позволяющим прогнозировать вероятность возникновения неразвивающейся беременности. При снижении концентрации кальцидиола плазмы ниже 10 нг/мл вероятность развития неразвивающейся беременности увеличивается в 4,74 раз ($p < 0,05$). Повышение уровня СЭФР следует расценивать как компенсаторно-приспособительную реакцию в ответ на гипоксию.

Пациенткам группы риска по формированию изучаемого осложнения гестации

целесообразно определение уровня кальцидиола плазмы и своевременная коррекция гиповитаминоза с целью устранения управляемого фактора риска неразвивающейся беременности – дефицита витамина D.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Структура репродуктивных потерь / А.А. Олина [и др.] // Пермский медицинский журнал. 2017. Т. 34, N 6. С. 59-66. DOI: 10.17816/pmj34659%66.
2. Беременность ранних сроков. От прегравидарной подготовки к здоровой гестации / Под. ред. В.Е. Радзинского, А.А. Оразмурадова. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2018. 800 с.
3. 1,25-Dihydroxy-vitamin D3 regulates NK-cell cytotoxicity, cytokine secretion, and degranulation in women with recurrent pregnancy losses / K. Ota [et al.] // Europ. J. of immunology. 2015. Vol. 45(11). P. 3188-3199. DOI: 10.1002/eji.201545541
4. Vitamin D improves the angiogenic properties of endothelial progenitor cells / M. Grundmann [et al.] // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2012. N 303. P. 954-962. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00030.2012>
5. Decreased serum vitamin D levels in early spontaneous pregnancy loss / W. Hou [et al.] // Eur. J. Clin. Nutr. 2016. Vol. 70(9). P. 1004-8. DOI: 10.1038/ejcn.2016.83.
6. Lerchbaum E., Rabe T. Vitamin D and female fertility // Curr. Opin. Obstet. Gynecol. 2014. Vol. 26(3). P. 145-150. DOI: 10.1097/GCO.0000000000000065.
7. Vitamin D status in early pregnancy and risk of preeclampsia / M. Achkar [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. 2015. Vol. 212(4). P. 511. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.11.009>
8. Самопроизвольный аборт: монография / Е.Е. Воропаева [и др.]. Челябинск: Издательство Южно-Уральского государственного медицинского университета, 2014. 163с.
9. Сидельникова, В.М. Подготовка и ведение беременности у женщин с привычным невынашиванием : метод. пособия и клинические протоколы / В.М. Сидельникова. Москва: МЕДпресс-информ, 2013. 249 с.
10. A systematic review and meta-analysis to determine the effect of sperm DNA damage on in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection outcome / L. Simon [et al.] // Asian J. of An-

drology. 2017. Vol. 19(1). P. 80-90. DOI: <https://doi.org/10.4103/1008-682X.182822>.

11. Alcohol consumption and binge drinking in early pregnancy. A cross-sectional study with data from the Copenhagen Pregnancy Cohort / M.L. Iversen [et al.] // BMC Pregnancy Childbirth. 2015. N 15. P. 327. DOI: 10.1186/s12884-015-0757-z.

12. Bastos R., Ramalho C., Dória S. Prevalence of chromosomal abnormalities in spontaneous abortions or fetal deaths // Acta. Med. Port. 2014. Vol. 27(1). P. 42-8.

13. Дударенкова М.Р., Горбунова Е.С. Анализ медико-социальных характеристик и фармакотерапия женщин с диагнозом неразвивающаяся беременность // Медицинский вестник Башкортостана. 2018. Т.13, N 2(74). С. 64-67.

14. Лигидова А.Т. Патогенетические аспекты угрозы прерывания беременности в 1 триместре : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ростов-на-Дону, 2011. 22 с.

15. Неразвивающаяся беременность: метод. рекомендации / В.Е. Радзинский [и др.]. Москва: StatusPraesens, 2015. 48 с.

16. Роль иммунных механизмов в патогенезе невынашивания беременности / Ю.Э. Доброхотова [и др.] // Акушерство и гинекология. 2016. N 7. С. 5-1071. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2016.7.5-10>

17. Шелепова Е.С. Особенности обмена витамина D при преэклампсии: дис. ... канд. мед. наук. Санкт-Петербург, 2018. 122 с.

18. Maternal Vitamin D Status in the Late Second Trimester and the Risk of Severe Preeclampsia in Southeastern China / X. Zhao [et al.] // Nutrients. 2017. Vol. 9(2). P. 138. DOI: 10.4172/2155-9600.C1.021

19. Дедов И.И., Мельниченко Г.А. Дефицит витамина D у взрослых: диагностика, лечение, профилактика: клинические рекомендации. Москва: Эндокринологический научный центр, 2015. 75 с.

20. Третьякова Т.Б., Башмакова Н.В., Демченко Н.С. Роль полиморфных вариантов гена сосудисто-эндотелиального фактора роста VEGF-A в формировании неразвивающейся беременности // Проблемы репродукции. 2016. Т. 22(6). С. 33-37. DOI: 10.17116/repro201622633-37.

21. VEGF-A regulated by progesterone governs uterine angiogenesis and vascular remodelling during pregnancy / M. Kim [et al.] // EMBO Mol. Med. 2013. Vol. 5(9). P. 1415-1430. DOI: 10.1002/emmm.201302618.

References

1. Olina AA, Sadykova GK, Galinova IV. The structure of reproductive losses. Perm medical journal. 2017;34(6):59-66. Russian. DOI: 10.17816/pmj34659%66

2. Radzinsky VE, Orazmuradova AA, editors. [Early pregnancy. From pregravid preparation for a healthy pregnancy]. Moscow: Editorial Board StatusPraesens; 2018. 800 p. Russian.

3. Ota K, Dambaeva S, Kim MW, et al. 1,25-Dihydroxy-vitamin D3 regulations NK-cell cytotoxicity, cytokine secretion, and degranulation in women with recurrent pregnancy. Europ. J. of immunology. 2015;45(11):3188-3199. DOI: 10.1002/eji.201545541

4. Grundmann M, Haidar M, Placzko S, et al. Vitamin D improves the angiogenic properties of endothelial progenitor cells. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2012;303:954-962. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00030.2012>

5. Hou W, Yan XT, Bai CM, et al. Decreased serum vitamin D levels in early spontaneous pregnancy loss. Eur. J. Clin. Nutr. 2016;70(9):1004-8. DOI: 10.1038/ejcn.2016.83

6. Lerchbaum E, Rabe T. Vitamin D and female fertility. Curr. Opin. Obstet. Gynecol. 2014;26(3):145-150. DOI: 10.1097/GCO.0000000000000065

7. Achkar M, Dodds L, Gigue`re Y, et al. Vitamin D status in early pregnancy and risk of preeclampsia. Am. J. Obstet. Gynecol. 2015;212(4):511. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.11.009>

8. Voropaeva EE, Kazachkov EL, Medvedev BI, et al. [Self-induced abortion: monograph]. Chelyabinsk: Izdatel'stvo Yuzhno-Ural'skogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta; 2014. 163 p. Russian.

9. Sidelnikova VM. [Preparation and management of pregnancy in women with habitual miscarriage: method. manuals and clinical protocols]. Moscow: Medpress-inform; 2013. 249 p. Russian.

10. Simon L, Zini A, Dyachenko A, et al. A systematic review and meta-analysis to determine the effect of sperm DNA damage on in vitro fertilization and intracytoplasmic outcome. Asian J. of Andrology. 2017;19(1):80-90. DOI: <https://doi.org/10.4103/1008-682X.182822>

11. Iversen ML, Sørensen NO, Broberg L, et al. Alcohol consumption and binge drinking in early pregnancy. A cross-sectional study with data from the Copenhagen Pregnancy Cohort. BMC Pregnancy Childbirth. 2015;15:327. DOI: 10.1186/s12884-015-0757-z

12. Bastos R, Ramalho C, Dória S. Prevalence of chromosomal abnormalities in spontaneous abortions or fetal deaths. *Acta. Med. Port.* 2014;27(1):42-8.

13. Dudenkova MR, Gorbunov ES. Analysis of medico-social characteristics and pharmacotherapy of women with a diagnosis of non-developing pregnancy. *Medical journal of Bashkortostan.* 2018;13(2):64-67. Russian.

14. Ligidova AT. [Pathogenetic aspects of threatened abortion in the 1st trimester] [dissertation]. Rostov-on-don; 2011. Russian.

15. Radzinsky VE, Makletsova SA, Aliyev IA, et al. [Undeveloping pregnancy: method. Recommendations]. Moscow: Statusreans; 2015. 48 p. Russian.

16. Dobrokhotova JE, Gankovskaya LV, Bakhareva IV, et al. The role of immune mechanisms in the pathogenesis of pregnancy and miscarriage. *Obstetrics and gynecology.* 2016;7:5-1071. Russian. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2016.7.5-10>

17. Shelepova ES. [Features of vitamin D metabolism in preeclampsia] [dissertation]. St. Petersburg; 2018. Russian.

18. Zhao X, Fang R, Yu R, et al. Maternal Vitamin D Status in the Late Second Trimester and the Risk of Severe Preeclampsia in Southeastern China. *Nutrients.* 2017;9(2):138-153. DOI: 10.4172/2155-9600.C1.021

19. Dedov II, Melnichenko G. [Vitamin D Deficiency in adults: diagnosis, treatment, prevention: clinical recommendations]. Moscow: Endokrinologicheskiy nauchnyy tsentr; 2015. 75p. Russian.

20. Tretyakova TB, Bashmakova NI, Demchenko NW. The Role of polymorphic gene variants of vascular endothelial growth factor VEGF-A in the formation of undeveloping pregnancy. *Problems of reproduction.* 2016;22(6):33-37. Russian. DOI:10.17116/repro201622633-37

21. Kim M, Park HJ, Seol JW, et al. VEGF-A regulated by progesterone governs uterine angiogenesis and vascular remodelling during pregnancy. *EMBO Mol. Med.* 2013;5(9):1415-1430. DOI: 10.1002/emmm.201302618

Информация об авторах

Елена Владимировна Енькова, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры хирургии акушерства и гинекологии ИДПО ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко», E-mail: enkova@bk.ru, ORCID: 0000-0001-8885-1587.

Ольга Викторовна Хоперская, соискатель кафедры хирургии акушерства и гинекологии ИДПО ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко», врач акушер-гинеколог БУЗ ВО «ВГКБ №3», E-mail: smv250587@mail.ru, ORCID: 0000-0003-4199-8156.

Information about the authors

Elena V. Enkova, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Professor of the Surgery of Obstetrics and Gynecology Department, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, E-mail: enkova@bk.ru, ORCID: 0000-0001-8885-1587.

Olga V. Khoperskaya, PhD Applicant to the Surgery of Obstetrics and Gynecology Department, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, obstetrician-gynecologist, Voronezh City Clinical Hospital №3, E-mail: smv250587@mail.ru, ORCID: 0000-0003-4199-8156.

Статья поступила в редакцию 21 августа 2018 г.
Receipt date 2018 August 21.

Статья принята к публикации 5 октября 2018 г.
Accepted for publication 2018 October 5.



УДК 616-009.8

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-9

М.В. Оробцова,
С.Г. Горелик,
И.Х. Муталиев,
Г.А. Ширикова,
Н.И. Хлебников

**Влияние операционного стресса на прогрессирование
когнитивной дисфункции у пациентов среднего
и пожилого возраста с ИБС и клапанной дисфункцией**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»),
ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Российская Федерация
Автор для переписки: М.В. Оробцова (orobtsova@yandex.ru)

Информация для цитирования: Влияние операционного стресса на прогрессирование когнитивной дисфункции у пациентов среднего и пожилого возраста с ибс и клапанной дисфункцией / М.В. Оробцова [и др.] // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 4. С. 79-84. [Orobtsova MV, Gorelik SG, Mutaliev IH, et al. The influence of operational stress on the progression of cognitive dysfunction in middle-aged and senior patients with ischemic heart disease and valvular dysfunction. Research Results in Biomedicine. 2018;4(4):79-84 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-9

Аннотация

Актуальность данного исследования определяется поиском резервов улучшения и повышения качества жизни пациентов, перенесших операции на открытом сердце, в особенности лиц пожилого и старческого возраста, в связи с увеличением продолжительности жизни и отсутствием в современной литературе данных, касающихся профилактики послеоперационных нарушений когнитивных дисфункций, поскольку когнитивные нарушения являются частым последствием кардиохирургических операций и обусловлены целым рядом факторов, среди которых выделяют микроэмболизацию церебральных сосудов, транзиторную церебральную ишемию вследствие гипоперфузии головного мозга во время использования искусственного кровообращения (ИК), развитие системной воспалительной реакции, отек головного мозга. **Цель исследования:** Изучить влияние операционного стресса на когнитивную сферу у пациентов среднего и пожилого возраста с ИБС или клапанной недостаточностью. **Материалы и методы:** Объектом исследования явились 30 пациентов, в возрасте от 46 до 80 лет (средний возраст $60,3 \pm 10,3$ года) с ишемической болезнью сердца (стабильной стенокардией напряжения) и клапанной патологией сердца, пролеченных в отделении кардиохирургии кардиохирургического центра Белгородской областной клинической больницы. Больные осматривались до оперативного лечения и в раннем послеоперационном периоде на $7,1 \pm 2,1$ сутки, в зависимости от тяжести состояния пациента. При исследовании использовались: Шкала «Мини Ког» и «Тест рисования часов». **Результаты** нашего исследования показали, что у больных пожилого возраста с клапанной патологией и с ишемической болезнью сердца прослеживается достоверное снижение когни-

тивных способностей и памяти в раннем послеоперационном периоде. **Заключение:** Нарастание когнитивной дисфункции у пожилых пациентов в раннем послеоперационном периоде показывает необходимость использования профилактических программ в до- и предоперационном периоде.

Ключевые слова: деменция; операционный стресс; когнитивные нарушения; пожилой возраст

Maria V. Orobtsova,
Svetlana G. Gorelik,
Isrofil H. Mutaliev,
Galina A. Shirikova,
Nikolai I. Khlebnikov

The influence of operational stress on the progression of cognitive dysfunction in middle-aged and senior patients with ischemic heart disease and valvular dysfunction

Belgorod State National Research University,
85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

Corresponding author: Maria V. Orobtsova (orobtsova@yandex.ru)

Abstract

Background: The relevance of this study is determined by the search for reserves to improve and increase the quality of life of patients undergoing open-heart surgery, especially the elderly and patients in their later life, due to an increase in life expectancy and the absence in the literature of data concerning the prevention of postoperative cognitive dysfunction disorders, since cognitive impairments are a frequent consequence of cardiac surgery and are due to a number of factors, among which microembolization cerebral vessels, transient cerebral ischemia due to cerebral hypoperfusion during use of the artificial circulation (IC), the development of systemic inflammatory response, brain edema. **The aim of the study:** To study the impact of operational stress on the cognitive field in patients of middle and advanced age with IHD or valvular insufficiency. **Materials and methods:** The object of the study included 30 patients aged 46 to 80 years (mean age 60.3 ± 10.3 years) with coronary heart disease (stable angina of stress) and valvular heart disease treated in the cardiosurgery department of the cardiosurgical center of Belgorod Regional Clinical Hospital. The patients were examined prior to surgical treatment and in the early postoperative period at 7.1 ± 2.1 days, depending on the severity of the patient's condition. The study used: the Mini-Cog scale and the Clock drawing test. **Results:** The results of our study showed that in elderly patients with valvular pathology and coronary heart disease there is a significant decrease in cognitive abilities and memory in the early postoperative period. **Conclusion:** The increase in cognitive dysfunction in elderly patients in the early postoperative period shows the need for using preventive programs in the pre- and pre-operative period.

Keywords: dementia; operational stress; cognitive impairment; advanced age

Введение. Когнитивные нарушения являются одними из частых последствий кардиохирургических операций и обусловлены целым рядом факторов [1] среди которых выделяют микроэмболизацию церебральных сосудов, транзиторную церебральную ишемию вследствие гипоперфу-

зии головного мозга во время использования искусственного кровообращения (ИК), развитие системной воспалительной реакции, отек головного мозга [2]. Несмотря на увеличение количества операций реваскуляризации миокарда у пациентов старше 70 лет, больные остаются в группе повышенного

риска, в связи с тяжелыми сопутствующими заболеваниями, которые могут стать причиной повышенной летальности после операции [3]. По мере накопления новых данных возникает ряд вопросов, которые требуют решения или коррекции.

В современной литературе до настоящего времени нет данных, касающихся профилактики послеоперационного делирия и нарушений когнитивных дисфункций [4].

Для оценки когнитивных функций предложено много тестов. Наиболее применяемыми и признанными во всем мире являются Тест «Мини Ког», «Тест рисования часов», «Краткое обследование познавательных способностей» и тест на речевую активность. Эти тесты позволяют оценить состояние когнитивных функций человека, как в начале наблюдения, так и в процессе наблюдения и реабилитации [5].

Рассмотрим каждый из них.

Тест «Мини Ког» используют во всем мире. Простота – важное преимущество данного теста, однако он позволяет выявлять только деменции и мало информативен для обнаружения легких и умеренных когнитивных расстройств [6]. Проводится тест следующим образом: пациенту предлагается запомнить и произнести за вами следующие слова: *Лес, Хлеб, Окно, Стул, Вода*. Затем пациент проходит «Тест рисования часов» (смотри ниже). И на следующем этапе пациенту предлагается вспомнить слова, которые он заучивал и повторял за вами.

«Тест рисования часов». Человека просят нарисовать циферблат часов с нанесенными на нем числами, и указать какое-нибудь время, например 11 часов 10 минут [2].

При оценке теста используются следующие критерии (1 балл за каждый пункт): приемлемый контур (понятная фигура, например, окружность, квадрат, прямоугольник); контур не слишком маленький, четко прорисован, линии контура непрерывны, не накладываются одна на другую, в случае отрыва руки при рисовании; представлены числа от 1 до 12; числа представлены арабскими цифрами, примерно одинакового размера и формата; числа представ-

лены в правильном порядке; [7] при написании чисел испытуемый не поворачивает лист бумаги; правильное расположение чисел на циферблате; все числа представлены внутри контура; циферблат имеет центр, где стрелки соприкасаются; часы имеют две стрелки; [8] часовая стрелка находится в соответствующем положении; минутная стрелка находится в соответствующем положении; минутная стрелка длиннее, чем часовая; на рисунке нет лишних отметок; стрелки имеют общую точку или разделены расстоянием не более 1 см [4].

Максимальная оценка «Теста рисования часов» 15 баллов.

Нижеизложенные данные подтверждают актуальность данной проблемы, а также необходимость оптимизации диагностики когнитивных нарушений у данной категории пациентов, на догоспитальном этапе, с целью возможной их профилактики.

Цель исследования: изучить влияние операционного стресса на когнитивную сферу у пациентов среднего и пожилого возраста с ИБС или клапанной недостаточностью.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования явился контингент больных с ишемической болезнью сердца (стабильной стенокардией напряжения) и клапанной патологией сердца, пролеченных в отделении кардиохирургии кардиохирургического центра Белгородской областной клинической больницы святителя Иоасафа. Выборка составила 30 пациентов, в возрасте от 46 до 80 лет (средний возраст $60,3 \pm 10,3$ года). Больные осматривались до оперативного лечения и в раннем послеоперационном периоде на $7,1 \pm 2,1$ сутки, в зависимости от тяжести состояния пациента. При исследовании нами использовались наиболее распространенные и простые в использовании шкалы: Шкала «Мини Ког» и «Тест рисования часов» [9, 10].

Результаты исследования. При исследовании когнитивной сферы нами получены следующие результаты: у пациентов с клапанной патологией сердца, готовящихся к плановому оперативному лечению как среднего, так и пожилого возраста наблюдается когнитивная дисфункция по результа-

там обоих тестов. В раннем послеоперационном периоде у пациентов среднего возраста достоверных данных усугубления когнитивных нарушений не обнаружено. У

пациентов пожилого возраста достоверно отмечено усугубление нарушений когнитивной сферы в раннем послеоперационном периоде. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты исследования пациентов среднего и пожилого возраста с клапанной патологией сердца

Table 1

Results of the study of patients of middle and old age with valvular pathology of the heart

	Тест рисования часов (средний балл)		Шкала Мини Ког (средний балл)	
	До операции	После операции	До операции	После операции
Пациенты среднего возраста	6,8±0,7	6,8±0,7	2,5±0,1	2,3±0,7
Пациенты пожилого возраста	6,3±0,2*	5,3±0,2*,**	1,8±0,2*	1,4±0,1*,**

* p<0,05 между группами

** p<0,05 внутри группы

* p<0.05 between groups

** p<0.05 within the group

У пациентов с ишемической болезнью сердца, готовящихся к плановому оперативному лечению независимо от возраста нами диагностированы когнитивные нарушения, при этом результаты обоих тестов достоверно хуже были у пациентов пожилого возраста, по сравнению с пациентами среднего возраста. В раннем послеоперационном периоде у пациентов и среднего и пожилого

возраста достоверно отмечено улучшение данных «Теста рисования часов». У пациентов среднего возраста также отмечено данных по шкале «Мини Ког», тогда как у пациентов пожилого возраста отмечено нарастание когнитивной дисфункции по результатам шкалы «Мини Ког». Данные представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты исследования пациентов среднего и пожилого возраста с ишемической болезнью сердца

Table 2

Results of the study of patients of middle and old age with ischemic heart disease

	«Тест рисования часов» (средний балл)		Шкала «Мини Ког» (средний балл)	
	До операции	После операции	До операции	После операции
Пациенты среднего возраста	6,7±0,4	7,1±0,7**	1,7±0,7	2,1±0,1**
Пациенты пожилого возраста	7,2±0,8*	7,5±0,5*,**	2,1±0,1*	1,6±0,4*,**

* p<0,05 между группами

** p<0,05 внутри группы

* p<0.05 between groups

** p<0.05 within the group

Заключение. У пациентов среднего и пожилого возраста с ИБС и клапанной патологией сердца имеются когнитивные нарушения. При этом у пациентов среднего возраста с клапанной патологией сердца в раннем послеоперационном периоде достоверных данных снижения когнитивных нарушений не отмечено. У пациентов пожилого возраста с клапанной патологией сердца прослеживается снижение когнитивных способностей и памяти в раннем послеоперационном периоде. У пациентов с ИБС независимо от возраста нами диагностированы когнитивные нарушения, при этом результаты обоих тестов достоверно хуже были у пациентов пожилого возраста, по сравнению с пациентами среднего возраста. Следует отметить, что результаты обоих тестов достоверно хуже у людей пожилого возраста и с клапанной патологией и с ИБС, чем у пациентов среднего возраста, а нарастание когнитивной дисфункции у пожилых пациентов в раннем послеоперационном периоде показывает актуальность использования профилактических программ в до- и предоперационном периоде.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Погодина А.Б., Газимов А.Х. Основы геронтологии и гериатрии – учебное пособие. Ростов-на-Дону: Феникс, 2007. С. 34-65.
2. Либби П. Болезни сердца по Браунвальду: руководство по сердечно-сосудистой медицине. Т. 1. Логосфера, 2015. С. 64-254.
3. Мушкамбаров Н.Н. Геронтология in polemico : монография. М.: ФЛИНТА, 2015. 467 с.
4. Ильницкий А.Н., Прощаев К.И. Старческая астения (Frailty) как концепция современной геронтологии. Геронтология. 2013. Т. 1, № 1. С. 5-16.
5. Новиков В.И. Клапанные пороки сердца. М.: МЕДпресс-информ, 2017. С. 25-47.
6. Егоров В.В. Теоретические основы биологии с введением в термодинамику живых систем. СПб.: Лань, 2018. С. 69.
7. Информационное обеспечение телемедицинских технологий и опыт их реализации на региональном уровне [Электронный ресурс] / В.М. Леванов [и др.] // Современные проблемы науки и образования.

2012. № 6. URL: <http://www.science-education.ru/106> — 7910 (дата обращения: 15.03.2018).

8. Реабилитационные и профилактические мероприятия при деменции и риске ее развития в практике социального работника / А.Н. Ильницкий [и др.]. Белгород, 2017. С. 4-10.

9. Горелик С.Г., Ильницкий А.Н., Прощаев К.И., Богат С.В. Программа для ЭВМ по оптимизации ухода в гериатрии в зависимости от степени старческой астении на основе представления результатов специализированного гериатрического осмотра. Свидетельство государственной регистрации программы для ЭВМ № 2013660311.

10. Горелик С.Г., Ильницкий А.Н., Прощаев К.И., Бочарова К.А., Андреевков В.С. Программа для ЭВМ «Оптимизация ухода за пациентами старших возрастных групп в амбулаторных условиях». Свидетельство государственной регистрации программы № 2016614405.

References

1. Pogodina AB, Gazimov AKh. [The fundamentals of gerontology and geriatrics are a textbook]. Rostov-on-Don: Feniks; 2007. P. 34-65. Russian.
2. Libbi P. [Heart disease by Braunwald: a guide to cardiovascular medicine]. T. 1. Logosfera; 2015. P. 64-254. Russian.
3. Mushkambarov NN. [Gerontology in polemico: monograph]. Moscow: FLINTA; 2015. 467 p. Russian.
4. Initsky AN, Proshchaev KI. [Senile asthenia (Frailty) as a concept of modern gerontology]. Gerontologiya. 2013;1(1):5-16. Russian.
5. Novikov VI. [Valvular heart disease]. Moscow: MEDpress-inform; 2017. P. 25-47. Russian.
6. Egorov VV. [Theoretical foundations of biology with the introduction into the thermodynamics of living systems]. St. Petersburg: Lan; 2018. P. 69. Russian.
7. Levantov VM, Initsky AN, Proshchaev KI, et al. [Information support of telemedicine technologies and experience of their implementation at the regional level]. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya [Internet]. 2012 [cited 2018 March 15];6. Available from: <http://www.science-education.ru/106> – 7910. Russian.
8. Initsky AN, Proshchaev KI, Olenskaya TL, et al. [Rehabilitation and preventive measures

for dementia and risk of its development in the practice of a social worker]. Belgorod; 2016. P. 4-10. Russian.

9. Gorelik SG, Ilitsky AN, Proshchaev KI, Bogat SV. The computer program for optimization of care in geriatrics, depending on the degree of senile asthenia on the basis of presentation of the results of a specialized geriatric examination. Certificate of state registration of the computer program N 2013660311. Russian.

10. Gorelik SG, Ilitsky AN, Proshchaev KI, Bocharova KA, Andreenkov VS. Computer program ["Optimization of care for patients of older age groups in outpatient settings"]. Certificate of state registration of the program N 2016614405. Russian.

Информация об авторах

Мария Валерьевна Оробцова, аспирант первого года обучения по направлению подготовки 31.06.01 Клиническая медицина, образовательная программа: Геронтология и гериатрия, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», E-mail: orobtsova@yandex.ru.

Светлана Гиршевна Горелик, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры общей хирургии с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет».

Исрофил Хасанович Муталиев, аспирант второго года обучения по направлению подготовки 31.06.01 Клиническая медицина, образовательная программа: Геронтология и гериатрия,

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет».
Галина Анатольевна Ширикова, соискатель ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет».
Николай Иванович Хлебников, соискатель ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет».

Information about the authors

Maria V. Orobtsova, 1st-year Post-graduate Student of Direction 33.06.01 Clinical Medicine, Educational Program: Gerontology and Geriatrics, Belgorod State National Research University. E-mail: orobtsova@yandex.ru.

Svetlana G. Gorelik, Holder of Habilitation Degree in Medicine, Associate Professor, Professor of the Department of General Surgery with a course of topographic anatomy and operative surgery, Belgorod State National Research University.

Isrofil H. Mutaliev, 2d-year Post-graduate Student of Direction 33.06.01 Clinical Medicine, Educational Program: Gerontology and geriatrics, Belgorod State National Research University.

Galina A. Shirikova, PhD Candidate of Belgorod State National Research University.

Nikolai I. Khlebnikov, PhD Candidate of Belgorod State National Research University.

Статья поступила в редакцию 1 июля 2018 г.
Receipt date 2018 July 1.

Статья принята к публикации 22 августа 2018 г.
Accepted for publication 2018 August 22.



УДК 616.89-008:616.65-006-053.9

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-10

В.И. Очколяс

**Непсихотические психические расстройства у больных
доброкачественной гиперплазией предстательной железы
(клиника и терапия)**

Николаевская областная психиатрическая больница №1,
ул. Володарского, д. 4, г. Николаев, 54003, Украина
Автор для переписки: В.И. Очколяс (ochkolyas7@mail.ru)

Информация для цитирования: Очколяс В.И. Непсихотические психические расстройства у больных доброкачественной гиперплазией предстательной железы (клиника и терапия) // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 4. С. 85-96. [Ochkolyas VI. Nonpsychotic mental disorders in patients with benign hypersplasia of the prostate gland (clinic and therapy). Research Results in Biomedicine. 2018;4(4):85-96 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-10

Аннотация

Актуальность: Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) является наиболее часто встречающимся заболеванием мочеполовой системы у пожилых мужчин, затрудняет социальное функционирование и снижает качество жизни. **Цель исследования:** Разработка подходов к оказанию психотерапевтической помощи больным пожилого возраста с ДГПЖ на основе верификации клинической картины непсихотических психических расстройств. **Материалы и методы:** Обследовано 120 больных с ДГПЖ и непсихотическими психическими расстройствами: 60 человек – лечившихся консервативно и 60 – на этапе подготовки к оперативному вмешательству. Применялись клинико-психопатологический, психометрический и статистический (описательная статистика, критерий χ^2 для таблиц сопряженности 2x2, коэффициент ранговой корреляции Спирмена) методы исследования. **Результаты:** Установлено, что пограничные психические расстройства наблюдаются у пациентов с ДГПЖ в 84,5%–89,5% случаев. Наиболее представленными были пролонгированные тревожные и тревожно-депрессивные реакции (18,3%–27,5%), апатическая депрессивная и ипохондрическая (8,3%–15,0%), тревожно-фобическая реакция (16,7%) и тревожно-субдепрессивная и тревожная реакции с конверсионными симптомами (13,3% и 11,7%). У пациентов с консервативной терапией симптоматика была умеренно выраженной ($17,5 \pm 0,09$ баллов) и они оценивали качество жизни как «неудовлетворительное» ($3,8 \pm 0,09$ балла), а подлежащие хирургическому лечению обнаруживали ($t > 33,2$ $p < 0,0001$) более выраженную симптоматику ($31,1 \pm 0,4$ балла), а качество жизни оценивали ($t > 10,8$ $p < 0,0001$) как плохое ($5,2 \pm 0,1$ балла). Преобладали тревожный, эгоцентрический и эргопатический типы реагирования на заболевание. **Заключение:** Дифференцированная психотерапия в структуре комплексного лечения больных ДГПЖ с непсихотическими психическими расстройствами должны строится с учетом основного подхода к терапии соматического заболевания. Такой подход позволяет на госпитальном этапе снизить степень выраженности аффективной напря-

женности и страх перед оперативным вмешательством, редуцировать основные психопатологические симптомы и обучить навыкам саморегуляции.

Ключевые слова: доброкачественная гиперплазия предстательной железы; непсихотические психические расстройства; расстройства адаптации; психотерапия

Viktor I. Ochkolyas

Nonpsychotic mental disorders in patients with benign hypersplasia of the prostate gland (clinic and therapy)

Nikolaev Regional Psychiatric Hospital №1
4 Volodarsky St., Nikolaev, 54003, Ukraine

Corresponding author: Viktor I. Ochkolyas (ochkolyas7@mail.ru)

Abstract

Background: Benign prostatic hyperplasia (BPH) is the most common disease of the genitourinary system in elderly men. It hampers social functioning and reduces the quality of life. **The aim of the study:** To develop approaches to the provision of psychotherapeutic care of elderly patients with BPH based on the verification of the clinical picture of nonpsychotic psychiatric disorders. **Materials and methods:** 120 patients with BPH and nonpsychotic psychiatric disorders were examined: 60 patients treated conservatively and 60 patients at the stage of preparation for surgical intervention. The following research methods were used: clinical-psychopathological, psychometric and statistical (descriptive statistics, criterion χ^2 for conjugation tables 2x2, coefficient of rank correlation of Spearman). **Results:** It has been established that borderline mental disorders are observed in patients with BPH in 84.5%–89.5% of cases. The most representative were prolonged anxious and anxious-depressive reactions (18.3%–27.5%), apathic depressive and hypochondriacal (8.3%–15.0%), anxious-phobic reaction (16.7%) and anxiety-subdepressive and anxious reactions with conversion symptoms (13.3% and 11.7%). In patients with conservative therapy, the symptomatology was moderately expressed (17.5 ± 0.09 points) and they assessed the quality of life as "unsatisfactory" (3.8 ± 0.09 points), but those patients subject to surgical treatment were detected ($t > 33.2$ $p < 0.0001$) to have more severe symptoms (31.1 ± 0.4 points), and the quality of life was assessed ($t > 10.8$ $p < 0.0001$) as poor (5.2 ± 0.1 points). Anxious, egocentric and ergopathic types of response to the disease were prevalent. **Conclusion:** Differentiated psychotherapy in the structure of complex treatment of patients with BPH with nonpsychotic psychiatric disorders should be built taking into account the basic approach to the therapy of somatic disease. This approach allows to reduce the degree of intensity of affective tension and fear of surgical intervention at the hospital stage, to reduce the main psychopathological symptoms and to teach skills of self-regulation.

Keywords: benign prostatic hyperplasia; nonpsychotic mental disorders; adaptation disorders; psychotherapy

Введение. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) является наиболее часто встречающимся заболеванием мочеполовой системы у пожилых мужчин [1, 2]. Хотя это не опасное для жизни заболевание, оно влияет на качество

жизни и постепенно снижает самооценку пациента. Частые дизурические явления, прерывание сна для опорожнения мочевого пузыря являются основными жалобами у большинства пациентов [3].

Социальную значимость и актуальность этой проблемы подчеркивают демографические исследования, свидетельствующие о значительном росте населения планеты в возрасте старше 60 лет, темпы которого существенно опережают рост населения в целом [4, 5]. Литературные данные [6, 7, 8] свидетельствуют, что ДГПЖ встречается в 10-20% мужчин 40-летнего возраста и у 90% мужчин 60-70 лет и старше. Важное значение имеет наследственная отягощенность [9].

Установлено [10, 11, 12, 13], что пограничные психические расстройства встречаются в 65% случаев заболевания, а клиническая картина их квалифицируется психопатологическими нарушениями в виде невротических реакций или оформленных состояний, синдромально определяемых как астенические, тревожные, тревожно-депрессивные, депрессивные, ипохондрические и обсессивно-фобические. Перечисленные расстройства чаще всего сопровождаются страхом и интенсивными переживаниями пациентов, связанными с опасениями озлокачествления патологического процесса и развитием рака простаты [14]. В связи с этим пациенты с ДГПЖ нуждаются в тщательной оценке депрессии, беспокойства и соматизации [15]. Это особенно важно в связи с расширением консервативной терапии ДГПЖ [16] и наличием эректильной дисфункции [17, 18].

В то же время наличие выраженных тревожно-депрессивных расстройств у пациентов с ДГПЖ препятствует своевременному обращению за медицинской помощью и является основной причиной отказа от оперативного вмешательства [1, 2, 19, 20].

В связи с этим **целью исследования** была разработка подходов к оказанию психотерапевтической помощи больным пожилого возраста с ДГПЖ на основе верификации клинической картины непсихотических психических расстройств.

Материал и методы исследования

В течение 2010-2011 гг. на базе урологических отделений Николаевской городской и областной больниц обследованы сплошные выборки: 71 пациент с ДГПЖ, получающие консервативную терапию и 67

пациентов на этапе подготовки к оперативному лечению. Из них для дальнейшего исследования отбирались пациенты с непсихотическими психическими расстройствами. Критериями отбора были: достоверно установленный диагноз ДГПЖ, отсутствие в анамнезе алкоголизма и перенесенных черепно-мозговых травм, наличие непсихотических психических расстройств. В процессе отбора для исследования в 1 группе НПП выявлялись у 84.5%, а во 2-й – у 89.5% человек. В результате выборку составили 120 больных с доброкачественной гиперплазией предстательной железы: 60 пациентов получающих консервативную терапию (первая группа) и 60 – подлежащих оперативному лечению (вторая группа). Все пациенты были в возрасте от 53 до 74 ($65,9 \pm 0,4$) лет.

Основными методами исследования были: клинико-психопатологический, психометрический (методика диагностики депрессивных состояний Зунге, тест личностной и ситуативной тревожности Спилберга-Ханина, методика диагностики оперативной оценки самочувствия, активности, настроения, тест ТООБЛ, шкала IPSS (International Prostate Symptom Score) – международная система суммарной оценки симптомов болезней простаты в баллах), статистический (описательная статистика, критерий χ^2 для таблиц сопряженности 2x2) и катamnестический (со сроком катamnеза 1 год).

Исследование проводилось в три этапа. Первый этап – диагностический, заключался в анализе и оценке социально-демографических, анамнестических, клинико-психопатологических характеристик, а также проводилось психометрическое обследование. В результате устанавливался функциональный, индивидуализированный диагноз, включающий ведущий синдром, тип акцентуации характера, тип реакции на болезнь, а также степень выраженности цереброваскулярной патологии. На втором этапе разрабатывалась и реализовывалась дифференцированная программа психотерапии. Для этого пациенты обеих групп были разделены на 2 подгруппы: получающих психотерапию и подгруппу сравнения (без

психотерапии) по 30 человек в каждой подгруппе. Третий этап заключался в оценке эффективности разработанных алгоритмов психотерапии.

Результаты и их обсуждение. Клиническая структура выявленных непсихотических психических расстройств представлена в таблице 1.

Таблица 1

Клиническая структура психических расстройств у больных доброкачественной гиперплазией предстательной железы

Table 1

The clinical structure of mental disorders in patients with benign prostatic hyperplasia

№ п/п	Типы психогенных реакций	1 группа		2 группа		Всего	
		n	%	n	%	n	%
1	Пролонгированная тревожная реакция	14	23,3	19	31,7	33	27,5
2	Пролонгированная тревожно-депрессивная реакция	11	18,3	17	28,3	28	23,3
3	Пролонгированная тревожно-фобическая реакция	10	16,7	10	16,7	20	16,7
4	Пролонгированная тревожно-субдепрессивная реакция с полиморфным психопатоподобным синдромом	8	13,3	-	-	8	6,7
5	Пролонгированная тревожная реакция с конверсионными симптомами	7	11,7	-	-	7	5,8
6	Пролонгированная апатическая депрессивная реакция	5	8,3	9	15	14	11,7
7	Пролонгированная ипохондрическая реакция	5	8,3	5	8,3	10	8,3
ИТОГО		60	100	60	100	120	100

Как видно из табл. 1, в обеих группах наиболее представленными были пролонгированные тревожные и тревожно-депрессивные реакции – соответственно 23,3% и 18,3% в первой группе, 27,5% и 23,3% – во второй. Апатическая депрессивная и ипохондрическая реакции встречались одинаково часто – по 8,3% в 1 группе, и в 15,0% и 8,3% случаев, соответственно, во второй. Тревожно-фобическая реакция встречалась у пациентов первой группы и второй группы также одинаково часто – по 16,7%. Пролонгированная тревожно-субдепрессивная реакция с полиморфным психопатоподобным синдромом и пролонгированная тревожная реакция с конверсионными симптомами встречались только в первой группе: в 13,3% и 11,7 % случаях.

Клиническая картина *пролонгированной тревожной реакции* в обеих группах на начальных этапах была одинаковой и про-

текала на фоне астенических расстройств в рамках церебро-васкулярных заболеваний, которые были, по сути, облигатным симптомом при всех реакциях и проявлялись снижением работоспособности, повышенной утомляемостью, общей слабостью. В переживаниях преобладали тревожные опасения за состояние здоровья, за свое будущее. Прослеживалась отчетливая зависимость степени выраженности жалоб и тревоги от переживаемого больным нарушения мочеиспускания. Характерным было преувеличение тяжести всех болезненных переживаний с чувством жалости к себе, повышенной слезливостью, пессимистическим отношением к своему будущему. Больные второй группы тяжело переносили медицинские манипуляции, бурно реагировали на боль, опасались предстоящей операции. Пациенты характеризовались умеренной личностной тревожностью (34,1-38,7 балла).

Уровень ситуативной тревожности ($t > 2,1$ $p < 0,05$) в первой группе был умеренным ($39,5 \pm 1,3$ балла), а во второй – высоким ($49 \pm 1,1$ балла). Во второй группе также выявлены более высокие ($t > 4,3$ $p < 0,01$) показатели депрессии: $61,5 \pm 2,2$ и $50,3 \pm 1,4$ балла соответственно, что объясняется стрессовой тревогой и опасениями неблагоприятного исхода оперативного вмешательства.

Пролонгированная тревожно-депрессивная реакция характеризовалась сниженным настроением и тревогой, определявшими мышление и поведение больных. Прослеживалось некоторое замедление мышления с тревожными размышлениями о будущем, снижением интереса к привычным занятиям. Соматовегетативные функции характеризовались снижением аппетита, диссомническими расстройствами (ранние просыпания, частые пробуждения по ночам, сонливость в дневное время). Начало появления тревожно-депрессивных нарушений в первой группе четко связано с установлением диагноза ДГПЖ и предложением консервативного лечения. Во второй группе тревожно-депрессивная симптоматика была более выражена, что связано с длительным периодом обследования, опасениями перед оперативным вмешательством. По результатам опросника САН пациенты оценивали свое состояние как неблагоприятное, причем показатели во второй группе по всему спектру: самочувствие-активность-настроение были статистически достоверно ниже ($p < 0,0001$), чем в первой. Аналогично во второй группе были более высокие ($p < 0,0001$) показатели ситуативной тревоги ($46,9 \pm 1,6$ балла) и депрессии ($60,8 \pm 2,8$ балла).

Тревожно-фобические реакции возникали у пациентов с тревожно-мнительными личностными характеристиками. В эмоциональной сфере первые проявления тревожно-фобического реагирования возникали на диагностическом этапе при ожидании установления диагноза. Нарушался сон, возникали канцерофобии. При усилении тревоги и мыслях о возможном раковом заболевании появлялось сердцебиение, потливость, похолодание конечностей. Пациенты фиксировались на своих переживаниях, пере-

ставали заниматься домашними делами, погружались в переживание болезни. Обострялись симптомы ЦВЗ – появлялась повышенная слезливость, сентиментальность. Уровень ситуативной тревожности ($t > 3,7$ $p < 0,01$) в первой группе был умеренным ($41,1 \pm 1,5$ балла), а во второй – высоким ($50,2 \pm 1,9$ балла). Также во второй группе была более выражена ($p < 0,001$) депрессия ($64,6 \pm 2,5$ балла).

При *пролонгированной тревожно-субдепрессивной реакции с полиморфными психопатоподобными расстройствами* в клинической картине на первый план выступала тревожность и подавленность с ощущением внутреннего беспокойства, которые сочетались со вспышками то раздражительности, то демонстративными, требованиями к себе повышенного внимания, высказывали обиды, были придирчивыми, подозрительными, злопамятными, с тревогой опасались за собственное здоровье, будущее. Пациенты обеих групп оценивали свое состояние как неблагоприятное, акцентируя внимание на неудовлетворенности самочувствием, активностью, самочувствием и настроением. Аналогично отмечался умеренный уровень личностной и ситуативной тревожности, а также легкая депрессия ($50,3 \pm 2,1$ балла).

Пролонгированные тревожные реакции с конверсионными симптомами проявлялись внутренним напряжением, тревогой за свое состояние и «утрату мужских качеств». В периоды семейных конфликтов пациенты жаловались, что «они болеют, а на них никто из родных не обращает внимание». У них немели конечности, становился сиплым голос, терялась чувствительность «по типу носков». Все мысли были направлены на заболевание, они много раз консультировались у различных специалистов, беспокоились, что заболевание будет прогрессировать. Характерны диссомнические расстройства. Когнитивный компонент был представлен опасениями за свое здоровье и за будущее. Отмечались незначительно выраженные волевые нарушения – некоторая социальная пассивность, снижение круга интересов, ограничение контактов. Показатели личностной тревожности составили

32,6±2,8 балла, а реактивной 38,1±1,8, что объясняется присущей большинству пациентов данной группы способностью к вытеснению, притворству. Теста Зунге выявил у них легкую депрессию (54,3±1,7 балла).

Пролонгированная апатическая депрессивная реакция определялась дефицитом побуждений с падением жизненного тонуса. Преобладало чувство отрешенности от прежних желаний, безучастность к окружающему, переживания безразличия, отсутствие инициативы, желаний, стремления действовать. Все их поступки были как бы лишены внутреннего смысла, совершались в силу необходимости. При углублении депрессии на первый план выдвигались ощущение внутреннего дискомфорта, мрачная угнетенность, связанные с осознанием происшедших изменений в жизни, а также с заболеванием ДГПЖ. По опроснику САН пациенты обеих групп оценивали свое состояние как неблагоприятное, при этом показатели во второй группе ($p<0,01$) были более неблагоприятные. В обеих группах определялась умеренная личностная тревожность, а во второй группе ситуативная тревожность была более высокой, чем в первой ($p<0,05$), соответственно 41,6±1,4 и 48,6±2,2 балла. Шкала Зунга выявила легкую депрессию в первой группе (51,5±2,0 балла) и субдепрессивное состояние ($p<0,01$) во второй (64,3±3,1 балла).

Пролонгированная ипохондрическая реакция проявлялась преувеличенными опа-

сениями за состояние своего здоровья на фоне повышенной тревожности, страха за последствия, попытками анализа причин возникновения заболевания. Пациенты читали литературу о своем заболевании, в результате появлялась ипохондрическая детализация мышления, проявляющаяся в рассуждениях о причинах заболевания, отдельных симптомах, переоценке симптомов расстройства мочеиспускания. Нарушался сон, периодами были неприятные сновидения, связанные с интерпретацией пациентами возможных последствий заболевания. У больных ограничивались контакты с окружающими, некоторые из них тщательно регламентировали распорядок дня, режим питания, строго следили за временем мочеиспускания и количеством мочи. По тесту САН пациенты обеих групп оценивали свое состояние как неблагоприятное, причем показатели второй группы были более низкими ($p<0,0001$). Личностная тревожность в обеих группах была умеренной, а уровень ситуативной тревожности во второй группе оценивался как высокий – 48,6±2,8 балла ($t>2$ $p<0,05$). У пациентов первой группы по шкале Зунге выявлена легкая депрессия ситуационного характера (53,2±2,2 балла), а во второй ($t>4,1$ $p<0,0001$) – субдепрессивное состояние (62,2±3,6 балла).

Результаты психометрического исследования больных с ДГПЖ первой и второй группы представлены в таблице 2.

Таблица 2

**Результаты психометрического исследования
больных с ДГПЖ первой и второй группы**

Table 2

**Results of the psychometric research in
patients with BPH of the first and second groups**

Метод психологического исследования		I группа		II группа		t>	p<
		М	m	М	m		
САН	Самочувствие	3,9	0,03	3,0	0,09	10	0.0001
	Активность	3,9	0,03	3,0	0,08	11,2	0.0001
	Настроение	3,9	0,03	3,0	0,1	9	0.0001
Спилбергера-Ханина	Личн. тр.	32,8	0,9	38,7	0,9	4,5	0.0001
	Ситуат. тр.	40,3	0,6	48,5	0,8	8,2	0.0001
Шкала Зунге	Депрессия	51,4	0,6	62,3	1,2	8,1	0.0001
IPSS		17,5	0,09	31,1	0,4	33,2	0,0001
QOL		3,8	0,09	5,2	0,1	10,8	0,0001

Как видно из таблицы 2, опросник САН выявил, что пациенты первой и второй группы оценивали свое состояние как неблагоприятное. Показатели отражали их неудовлетворенность активностью, здоровьем (самочувствием), а также эмоциональным состоянием (настроением). Хотя показатели функционального психоэмоционального состояния пациентов первой и второй группы были примерно на одном уровне, тем не менее они статистически достоверно ($p < 0,0001$) более низкие, чем во второй.

Тест Спилбергера-Ханина показал, что пациенты первой и второй группы отличались умеренной личной тревожностью: $32,8 \pm 0,9$ балла и $38,7 \pm 0,9$ балла соответственно, хотя различия статистически достоверны. В то же время показатели реактивной тревожности (как состояния), обусловленного переживаниями, связанными с заболеванием ДГПЖ у пациентов первой группы были умеренными ($40,3 \pm 0,6$ балла), а во второй группе ($p < 0,0001$) носили более выраженный характер ($48,5 \pm 0,8$ балла).

Шкала депрессии Зунга выявила легкую депрессию в первой группе – $51,4 \pm 0,6$

балла, а у пациентов второй группы степень выраженности депрессии была более высокой ($p < 0,0001$) и характеризовалась наличием субдепрессивного состояния ($62,3 \pm 1,2$ балла).

Средний балл по Международной системе суммарной оценки симптомов и качества жизни больных при заболеваниях предстательной железы (IPSS) пациентов первой группы составил $17,5 \pm 0,09$ балла, что свидетельствует об умеренно выраженной симптоматике. При этом пациенты первой группы оценивали свое качество жизни, в общем как неудовлетворительное ($3,8 \pm 0,09$ балла). Пациенты же второй группы выявляли у себя более выраженную симптоматику ($t > 33,2$ $p < 0,0001$) ДГПЖ ($31,1 \pm 0,4$ балла), а качество жизни оценивали ($t > 10,8$ $p < 0,0001$) как плохое ($5,2 \pm 0,1$ балла).

Результаты корреляционного анализа по ряду параметров: уровень депрессии, ситуативной и личностной тревожности, самочувствие, активность, настроение с показателями IPSS и QOL представлены в таблице 3.

Таблица 3

**Результаты корреляционного анализа
психометрических показателей больных ДГПЖ 1 и 2 группы**

Table 3

**Results of the correlation analysis of psychometric parameters of patients with BPH
of groups 1 and 2**

№ п/п	Корреляционные пары		r	p<
1	IPSS	QOL	- 0,63	0,000001
2	IPSS	Депрессия	0,6	0,000001
3	IPSS	Личностная тревожность	0,34	0,00013
4	IPSS	Ситуативная тревога	0,52	0,000001
5	IPSS	Самочувствие	- 0,56	0,000001
6	IPSS	Настроение	- 0,5	0,000001
7	QOL	Депрессия	-0,45	0,000001
8	QOL	Личностная тревожность	-0,32	0,00042
9	QOL	Ситуативная тревога	-0,5	0,000001
10	QOL	Самочувствие	0,47	0,000001
11	QOL	Настроение	0,43	0,000001

Как видно из таблицы, качество жизни пациентов (QOL) находится в обратной корреляционной зависимости от степени выраженности симптомов ДГПЖ. В свою очередь,

глубина симптомов ДГПЖ имеет прямую корреляционную зависимость со степенью выраженности депрессии, личностной и ситуативной тревожности, и обратную – с само-

чувствием и настроением пациентов. Также выявлена обратная корреляционная зависимость качества жизни с депрессией, личностной и ситуативной тревожностью и прямая – с самочувствием и настроением, что свидетельствует об определенной зависимости аффективных расстройств от нарушения качества жизни пациента.

Согласно полученным данным опросника ТОБОЛ для больных с доброкачественной гиперплазией предстательной железы наиболее характерными являются тревожный и смешанные с ним типы реагирования на заболевание. Результаты отражены в таблице 4.

Таблица 4

Типы отношения к болезни (результаты теста ТОБОЛ)

Table 4

Types of attitude towards the disease (test results)

№ п/п	Тип отношения к болезни	Первая группа		Вторая группа		ВСЕГО	
		п	%	п	%	п	%
1	Тревожный	40	66,6	42	70,0	82	68,3
2	Эгоцентрический	12	20,0	4	6,66	16	13,3
3	Эргопатический	4	6,66	4	6,66	8	6,7
4	Анозогностический	1	1,66	3	5,0	4	3,3
5	Меланхолический	1	1,66	2	3,33	3	2,5
6	Дисфорический	2	3,33	0	–	2	1,7
7	Апатический	0	–	2	3,33	2	1,7
8	Паранойяльный	0	–	3	5,0	3	2,5
ИТОГО		60	100	60	100	120	100

Как видно из таблицы 4, в подавляющем большинстве случаев (66-70%) у пациентов обеих групп выявлялся тревожный тип реагирования на болезнь. Данное обстоятельство объясняется тем, что психологический профиль больных ДГПЖ характеризуется высокими показателями личностной и ситуативной тревожности, а также депрессии с фиксацией на заболевании и оценкой своего состояния как неблагоприятного, что в сочетании с высоким удельным весом тревожно-мнительного радикала в преморбидно-личностной структуре обуславливает доминирующий (66,7%) тревожный тип отношения к болезни.

Для пациентов с *тревожным типом отношения к болезни* были характерными непрерывное беспокойство и мнительность в отношении неблагоприятного течения болезни, возможных осложнений неэффективности и даже опасности лечения. Они старались искать новые способы лечения, получить от врача дополнительную информацию о болезни и методах лечения. Пациенты часто интересовались объективными

данными (результаты анализов, заключения специалистов). Их настроение характеризовалось как тревожное. Как следствие тревоги отмечалось угнетенность настроения и психической активности. Сочетание данного типа отношения к болезни с другими типами (неврастеническим, сенситивным, паранойяльным меланхолическим и ипохондрическим) еще более усугубляло картину: отмечалось чрезмерное сосредоточение на субъективных болезненных и иных неприятных ощущениях; преувеличение действительных и выискивание несуществующих болезней и страданий; преувеличение неприятных ощущений в связи с побочными действиями лекарств и диагностических процедур. Для некоторых пациентов (при тревожно-неврастеническом типе) были характерны даже вспышки раздражения, особенно при неприятных ощущениях, при неудачах лечения, хотя в последующем они довольно критически относились к своим такого рода поступкам и необдуманным словам. Сочетание тревожно-сенситивного типов отмечалось у пациен-

тов чрезмерной ранимостью, уязвимостью, озабоченностью возможными неблагоприятными впечатлениями, которые могут произвести на окружающих сведения об их болезни. При этом их колебания настроения были связаны чаще с межличностными контактами.

Пациенты с *эгоцентрическим типом отношения к заболеванию* ДГПЖ, наоборот искали выгоду в связи с болезнью. Это проявлялось в том, что они демонстрировали всем окружающим, не только близким им людям, свои страдания и переживания. При этом основной целью данного поведения являлось желание вызвать сочувствие, завладеть их вниманием. Они требовали заботы о себе, не считаясь с проблемами других.

Эргопатический тип отношения к болезни характеризовался стеническим отношением к работе. При этом некоторые пациенты даже отмечали, что их желание заниматься работой в период заболевания ДГПЖ было выражено еще в большей степени, чем до болезни. Они проявляли избирательное отношение к обследованию и лечению.

Основной характеристикой *анозогностического типа отношения к болезни* является активное отбрасывание мысли о болезни, о возможных ее последствиях, вплоть до отрицания очевидного. Такие пациенты, даже не смотря на тяжесть заболевания, демонстрировали желание продолжать получать от жизни все, что и ранее, несмотря на болезнь.

Довольно пессимистический взгляд на все вокруг проявляли пациенты с *меланхолическим (витально-тоскливым) отношением к заболеванию* ДГПЖ. Они высказывали неверие в выздоровление, в возможное улучшение, в эффект лечения, сомневались в успехе лечения даже при благоприятных объективных данных и удовлетворительном самочувствии.

Дисфорический (агрессивный) тип отношения к болезни был выявлен только у 2 пациентов первой группы. У них доминировало несколько озлобленное настроение, они имели недовольный вид. Они требовали особого внимания к себе, и даже проявляли подозрительность к процедурам и лечению,

и непосредственно к данному исследованию.

2 пациентов второй группы с *апатическим отношением к болезни* проявляли безразличие к своей судьбе, к исходу болезни, к результатам лечения. Они пассивно подчинялись процедурам и лечению, чаще при настойчивом побуждении со стороны родственников. В поведении, деятельности и межличностных отношениях проявляли вялость и апатию.

Некоторая подозрительность и настойчивость к разговорам о себе, к лекарствам и процедурам отмечалась у пациентов с *паранойальным типом отношения к болезни* (у 3 пациентов второй группы).

На втором этапе исследования проводилась разработка и реализация психотерапевтической программы, основанной на современных психотехнологиях нейролингвистического программирования, эриксоновского гипноза и гештальттерапии и состоящей из трех частей: вводной, терапевтической и обучения навыкам саморегуляции.

Вводная часть состояла из разъяснительной психотерапии, а задачей было установление эффективного терапевтического контакта с пациентом и мотивация его на психотерапию и овладение методами саморегуляции. Продолжительность первой части 1-2 сеанса. Вторая часть – собственно психотерапия. Основной задачей было устранение болезненных симптомов. Для этого проводилась коррекция эмоциональной реакции на факт диагностики ДГПЖ, усиление лечебно-охранительного режима, дезактуализация психогении, формирование положительной жизненной установки, активизация ресурсов пациента. Применялись известные техники нейролингвистического программирования (коллапс якорей, генерирование ресурсов, линия времени и изменение личной истории, метод трехместной диссоциации), эриксоновский гипноз, техники гештальттерапии, направленные на редукцию эмоционального напряжения (превращение чувств в образы с последующим отреагированием неприятных эмоций), «два стула». Третья часть – обучение навыкам саморегуляции. Пациенты обучались самогипнозу, схема которого адаптирова-

лась с учетом интеллекта и ведущей модальности пациента.

Целью психотерапии при консервативном лечении было устранение болезненных симптомов (тревоги и депрессии, а также поведенческих нарушений) и обучение навыкам саморегуляции. При оперативном лечении целями психотерапии были: в дооперационном периоде: снижение уровня тревоги и устранение страха перед операцией. Применялись техники присоединения ресурсов, нейтрализации тревоги, возрастной прогрессии (мысленное перемещение в послеоперационный период с присоединением ресурса). В послеоперационном периоде (2-3 сеанса): психологическая поддержка, активизация внутренних ресурсов и жизненной позиции, устранение тревожных опасений при фобических расстройствах.

Спустя 6 месяцев после окончания индивидуальной психотерапии и продолжения занятиями самогипнозом в первой группе симптомы непсихотических психических расстройств были редуцированы, а показатели самочувствия, активности и настроения существенно улучшились. Во всех случаях было состояние без депрессии, снизилась ситуативная тревога до «состояния без тревоги», нормализовались показатели по тесту САН. Во второй группе у пациентов также была редукция психопатологической симптоматики непсихотического регистра, статистически достоверно улучшились все показатели по тесту САН – самочувствие, активность, настроение нормализовались. По тесту Зунге диагностировалось состояние без депрессии, а по тесту Спилбергер-Ханина – легкая ситуативная тревожность (ближе к состоянию без тревоги).

Заключение. Таким образом, в результате исследования установлено, что при доброкачественной гиперплазии предстательной железы у мужчин пожилого возраста, получающих консервативное лечение, по нашим данным, в 84,5% случаев обнаруживаются непсихотические психические расстройства, а у подлежащих оперативному лечению – в 89,5% случаев. Клиническая картина непсихотических психических расстройств у больных ДГПЖ представлена пролонгированными тревожными и тревож-

но-депрессивными реакциями, занимающими 50,8% случаев. Реже встречаются апатическая депрессивная и ипохондрическая реакции (20%). Тревожно-фобическая и тревожно-субдепрессивная реакция с полиморфным психопатоподобным синдромом чаще встречаются при консервативном лечении соответственно: в 16,7% и 13,3% случаев. Степень выраженности тревоги и депрессии статистически достоверно преобладает в группе с оперативным лечением и коррелирует с тяжестью основных симптомов ДГПЖ, которая существенно выше, чем в группе с консервативным лечением. В формировании личностных реакций на ДГПЖ существенную роль играют преморбидно-личностные особенности пациентов, обуславливающие основные симптомы реагирования, что важно учитывать при разработке программы психотерапии. Астеническая симптоматика, имеющаяся у пациентов в рамках церебро-васкулярной патологии облегчала формирование реакций на болезнь. Дифференцированная психотерапия в структуре комплексного лечения больных ДГПЖ с непсихотическими психическими расстройствами должны строиться с учетом основного подхода к терапии соматического заболевания и включает три этапа: индивидуальная психотерапия, обучение навыкам самогипноза и, собственно, регулярные занятия пациентом самогипнозом. Такой подход позволяет на госпитальном этапе снизить степень выраженности аффективной напряженности и страх перед оперативным вмешательством, редуцировать основные психопатологические симптомы и обучить навыкам саморегуляции.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Не просто простата: проблемы доброкачественной гиперплазии предстательной железы у пожилых / А.Л. Верткин [и др.] // Фарматека. 2009. N 9. С. 50-55.
2. Emberton M., Martorana G. BPH: Social impact and patient's perspective // Eur. Urol. Suppl. 2006. N 5. P. 991-996.
3. Кривобородов Г.Г., Тур Е.И., Соловьев В.В. Применение препаратов Цернилтон и Цер-

нилтон Форте в лечении хронического простатита и симптомов нижних мочевыводящих путей вследствие доброкачественной гиперплазии предстательной железы // Эффективная фармакотерапия. 2013. N 26. С. 48-53.

4. Сивков А.В. Медикаментозная терапия доброкачественной гиперплазии предстательной железы // Доброкачественная гиперплазия предстательной железы / под ред. Н.А. Лопаткина; Всерос. о-во урологов. М., 1997. С. 67-83.

5. Dornas M.C., Damião R., Carrerette F.B. Tratamento contemporâneo não cirúrgico da hiperplasia prostática benigna // Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto, UERJ. 2010. 9, supl. 1: 48 Congresso do HUPE «Saúde do Homem». P. 35-39.

6. Аляев Ю.Г., Григорян В.А., Чиненов Д.В. Диагностика и лечение доброкачественной гиперплазии предстательной железы // Лечащий врач. 2007. N 4. С. 70-73.

7. Сетегис при лечении доброкачественной гиперплазии предстательной железы. Интермиттирующий режим дозирования / Т.С. Перепанова [и др.] // Русский медицинский журнал. 2004. N 24. С. 1458-1461.

8. Importance of understanding the epidemiology and natural history of BPH / M.J. Barry [et al.] // The international consultation on benign prostatic hyperplasia (BPH), Paris, June 26-27, 1991 : proceedings / eds.: A.T.K. Cockett, Y. Aso, C. Chatelain [et al.] Paris, 1992. P. 13-21.

9. Lim K.B. Epidemiology of clinical benign prostatic hyperplasia // Asian. J. Urol. 2017. Vol. 4(3). P. 148-151.

10. Данилин И.Е. Пограничные психические расстройства у больных с опухолями предстательной железы: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2003. 24 с.

11. Захарушкина Т.С. Психические расстройства при доброкачественной гиперплазии предстательной железы на различных этапах оперативного лечения: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2001. 25 с.

12. Захарушкина Т.С., Абоян И.А., Павлов С.В. Психические расстройства при доброкачественной гиперплазии предстательной железы // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2001. Т. 101, N 12. С. 29-31.

13. Захарушкина Т.С., Абоян И.А., Павлов С.В. Качество жизни пациентов, страдающих доброкачественной гиперплазией простаты // Социальная и клиническая психиатрия. 2002. Т. 11, N 1. С. 77-80.

14. Марилов В.В., Данилин И.Е. Психические расстройства у больных опухолями пред-

стательной железы в сравнительном аспекте // Социальная и клиническая психиатрия. 2005. Т. 15, N 4. С. 23-27.

15. The relationship between depression, anxiety, somatization, personality and symptoms of lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia / J.S. Koh [et al.] // Psychiatry Investigation. 2015. Vol. 12(2). P. 268-273.

16. Effects of withdrawing α 1-blocker from combination therapy with α 1-blocker and 5 α -reductase inhibitor in patients with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia: a prospective and comparative trial using urodynamics / Y. Matsukawa [et al.] // J. Urol. 2017. Vol. 198(4). P. 905-912.

17. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы: возможность применения ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа / А.О. Васильев [и др.] // Медицинский совет. 2016. N 19. С. 109-113.

18. Пушкарь Д.Ю., Раснер П.И., Скобелев П.И. Современные возможности скрининга рака простаты у пациентов с ДГПЖ до и после оперативного лечения: обзор // Урология. 2001. N 6. С. 48-54.

19. Зеленский А.И. Сексуальные расстройства при доброкачественной гиперплазии предстательной железы у молодых мужчин // Медицинская психология. 2007. N 4. С. 105-107.

20. Яхин К.К., Нуртдинов А.Р., Ситдыкова М.Э. Особенности личности и психического состояния пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы // Медицинский вестник Башкортостана. 2017. Т. 12, N 4. С. 21-24.

Reference

1. Vertkin AL, Rodyukova IS, Galkin IV, et al. [Not just the prostate: the problems of benign prostatic hyperplasia in the elderly]. Farmateka. 2009;9:50-55. Russian.

2. Emberton M, Martorana G. BPH: Social impact and patient's perspective. Eur. Urol. Suppl. 2006;5:991-996.

3. Krivoborodov GG, Tur EI, Solovev VV. [The use of drugs Cernilton and Cernilton Forte in the treatment of chronic prostatitis and symptoms of the lower urinary tract due to benign prostatic hyperplasia]. Effektivnaya farmakoterapiya. 2013;26:48-53. Russian.

4. Sivkov AB. [Drug therapy for benign prostatic hyperplasia]. In Lopatkin NA, editor. Dobrokachestvennaya giperplaziya predstatelnoj zhelezy [Benign prostatic hyperplasia]. Moscow: Vseros. o-vo urologov; 1997. P. 67-83. Russian.

5. Dornas MC, Damião R, Carrerette FB. Tratamento contemporâneo não cirúrgico da hiperplasia prostática benigna // Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto, UERJ. 2010; 9(1): 48. Congresso do HUPE «Saúde do Homem». P. 35-39.
6. Alyayev YuG, Grigoryan VA, Chinenov DV. [Diagnosis and treatment of benign prostatic hyperplasia]. Lechashhij vrach. 2007;4:70-73. Russian.
7. Perepanova TS, Maksimov VA, Davydova EN, et al. [Setegis in the treatment of benign prostatic hyperplasia. Intermittent dosing regimen]. Russkij meditsinskij zhurnal. 2004;24:1458-1461. Russian.
8. Barry MJ, Beckley S, Boyle P, et al. Importance of understanding the epidemiology and natural history of BPH. In: Cockett ATK, Aso Y, Chatelain C [et al.], editors. Proceedings of the international consultation on benign prostatic hyperplasia (BPH); 1991 June 26-27 Paris. P. 13-21.
9. Lim KB. Epidemiology of clinical benign prostatic hyperplasia. Asian. J. Urol. 2017;4(3):148-151.
10. Danilin IE. [Borderline mental disorders in patients with tumors of the prostate] [dissertation]. Moscow; 2003. Russian.
11. Zakharushkina TS. [Mental disorders in benign prostatic hyperplasia at various stages of surgical treatment] [dissertation]. Moscow; 2001. Russian.
12. Zakharushkina TS, Aboyan IA, Pavlov SV. [Mental disorders in benign prostatic hyperplasia]. Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova. 2001;101(12):29-31. Russian.
13. Zakharushkina TS, Aboyan IA, Pavlov SV. [Quality of life of patients with benign prostatic hyperplasia]. Sotsial'naya i klinicheskaya psikiatriya. 2002;11(1):77-80. Russian.
14. Marilov VV, Danilin IE. [Psychiatric disorders in patients with tumors of the prostate gland in a comparative aspect]. Sotsialnaya i klinicheskaya psikiatriya. 2005;15(4):23-27. Russian.
15. Koh JS, Ko HJ, Wang S-M, et al. The relationship between depression, anxiety, somatization, personality and symptoms of lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia. Psychiatry Investigation. 2015;12(2): 268-273.
16. Matsukawa Y, Takai S, Funahashi Y, et al. Effects of withdrawing α 1-blocker from combination therapy with α 1-blocker and 5 α -reductase inhibitor in patients with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia: a prospective and comparative trial using urodynamics. J. Urol. 2017;198(4):905-912.
17. Vasil'ev AO, Govorov AV, Kasyan GR, et al. [Benign prostatic hyperplasia: the possibility of using phosphodiesterase type 5 inhibitors]. Meditsinskij sovet. 2016;19:109-113. Russian.
18. Pushkar DYU, Rasner PI, Skobelev PI. [Modern possibilities for screening prostate cancer in patients with BPH before and after surgery: a review]. Urologiya. 2001;6:48-54. Russian.
19. Zelenski AI. [Sexual disorders in benign prostatic hyperplasia in young men]. Meditsinskaya psikhologiya. 2007;4:105-107. Russian.
20. Yakhin KK, Nurtudinov AR, Sitdykova ME. [Features of the personality and mental state of patients with benign prostatic hyperplasia]. Meditsinskij vestnik Bashkortostana. 2017;12(4):21-24. Russian.

Информация об авторе

Виктор Иванович Очколяс, кандидат медицинских наук, председатель судебно-психиатрической экспертной комиссии Николаевской областной психиатрической больницы №1 (Украина).

Information about the author

Viktor I. Ochkolyas, Candidate of Medical Sciences, Chairman of the Forensic Psychiatric Expert Commission of Nikolaev Regional Psychiatric Hospital №1 (Ukraine).

Статья поступила в редакцию 17 июля 2018 г.
Receipt date 2018 July 17.

Статья принята к публикации 26 августа 2018 г.
Accepted for publication 2018 August 26.