

с е т е в о й н а у ч н ы й ж у р н а л ISSN 2658-6533

НАУЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

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

Том 5 | № 1
Volume 5 | 2019

НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ
БИОМЕДИЦИНСКИХ
ИССЛЕДОВАНИЙ

RESEARCH RESULTS
IN BIOMEDICINE

Сайт журнала:
rrmedicine.ru

сетевой научный рецензируемый журнал
online scholarly peer-reviewed journal



Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
Свидетельство о регистрации средства массовой информации Эл. № ФС 77-74739 от 29 декабря 2018 г.

The Journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor)
Mass media registration certificate El. № FS 77-74739 of December 29, 2018



Том 5, №1. 2019

СЕТЕВОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2014 г.

ISSN 2658-6533



Volume 5, № 1. 2019

ONLINE SCHOLARLY PEER-REVIEWED JOURNAL

First published online: 2014

ISSN 2658-6533

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР: **Чурносов 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: **Малютина 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
Жернакова 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

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. Rudyh**, 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. Proshchaev, 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

университет», Белгород, РФ

Полоников А.В., доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Курск, РФ
Процаев К.И., доктор медицинских наук, профессор, АНО «Научно-исследовательский медицинский центр «ГЕРОНТОЛОГИЯ», Москва, РФ

Радзинский 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

Фрейдин 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

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. Freydin, 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 Medicinæ Habilitatus, Professor, Practice for Women's Health, Gynecology & Obstetrics, Berlin, Germany

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

ГЕНЕТИКА

И.В. Пономаренко Использование метода Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) и его модификаций для анализа ген-генных и генно-средовых взаимодействий при генетико-эпидемиологических исследованиях (обзор)	4
Niklas Padutsch, Thomas Liehr First report on a 20qh+ heteromorphism characterized by molecular cytogenetics as amplification of D20Z1 sequences	22
С.Г. Ворсанова, О.С. Куринная, Ю.Б. Юров, М.А. Зеленова, Е.С. Кешишян, В.Ю. Воинова, И.А. Демидова, И.Ю. Юров Молекулярно-цитогенетическое исследование детей, родившихся недоношенными: выявление геномных аномалий	25

GENETICS

Irina V. Ponomarenko Using the method of Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) and its modifications for analysis of gene-gene and gene-environment interactions in genetic-epidemiological studies (review)	4
Niklas Padutsch, Thomas Liehr First report on a 20qh+ heteromorphism characterized by molecular cytogenetics as amplification of D20Z1 sequences	22
Svetlana G. Vorsanova, Oksana S. Kurinnaia, Yuri B. Yurov, Maria A. Zelenova, Elena S. Keshishian, Victoria Y. Voinova, Irina A. Demidova, Ivan Y. Iourov Molecular cytogenetic study of preterm infants: genomic anomalies detection	25

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

И.И. Любимов, В.О. Губарева Сравнительная оценка эффективности производного DMAE 7-16, карбамилированного дарбэпоэтина и субстанции C7070 при коррекции гипертензивной нейроретинопатии у крыс	52
П.К. Микаелян, А.Л. Локтионов, Н.А. Быстрова, П.М. Назаренко Фармакологическая коррекция иммунных и метаболических нарушений при остром билиарном панкреатите различной степени тяжести	63
А.М. Темирбулатова, Э.Ф. Степанова, Д.В. Веселова, Л.П. Лежнева Исследования по расширению спектра использования экстрактов родиолы розовой, липы сердцевидной и астрагала эспарцетного в медицинской практике	84

PHARMACOLOGY, CLINICAL PHARMACOLOGY

Igor I. Lyubimov, Viktoriya O. Gubareva Comparative evaluation of the effectiveness of DMAE derivative 7-16, carbamilated darbepoetin and substance C7070 in correction of hypertensive neuroretinopathy in rats	52
Pavel K. Mikaelyan, Alexey L. Loktionov, Natalya A. Bystrova, Peter M. Nazarenko Pharmacological correction of immune and metabolic disorders in acute biliary pancreatitis of varying severity	63
Anna M. Temirbulatova, Eleonora F. Stepanova, Daria V. Veselova, Larisa P. Lezhneva Research on the expansion of the use of extracts of Rhodiola rosea, Linden cordate and Astragalus aspercentage in clinical practice	84

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

А.Е. Андреев, Т.С. Клейменова, А.О. Дробинцева, В.О. Полякова, И.М. Кветной Сигнальные молекулы, вовлеченные в образование новых нервных окончаний при эндометриозе (обзор)	94
Л.И. Захарова Нервная анорексия: распространенность, критерии диагностики и психосоматические соотношения (обзор)	108
И.Б. Антонов Экспрессия белков MMP при старении миокарда в норме и при дилатационной кардиомиопатии	122
В.И. Паникар, Э.А. Щербань, И.А. Павлова Комплексная гериатрическая оценка остеоартроза коленных суставов в старческом возрасте	131

CLINICAL MEDICINE

Alexander E. Andreev, Tatyana S. Kleimenova, Anna O. Drobintseva, Viktoriya O. Polyakova, Igor M. Kvetnoy Signal molecules involved in the formation of new nerve endings in endometriosis (review)	94
Liliya I. Zakharova Anorexia nervosa: prevalence, diagnostic criteria and psychosomatic relations (review)	108
Igor B. Antonov Expression of MMP proteins in the aging of the myocardium in normal conditions and dilated cardiomyopathy	122
Vera I. Panikar, Elvira A. Shcherban, Irina A. Pavlova Complex geriatric assessment of osteoarthritis of knee joints in the senior age	131

ГЕНЕТИКА GENETICS



УДК 575

DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-1

И.В. Пономаренко

Использование метода Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) и его модификаций для анализа ген-генных и генно-средовых взаимодействий при генетико-эпидемиологических исследованиях (обзор)

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.В. Пономаренко (ponomarenko_i@bsu.edu.ru)

Аннотация

Актуальность: При генетико-эпидемиологическом исследовании мультифакториальных признаков (заболеваний) важной задачей является оценка ген-генных и генно-средовых взаимодействий, ассоциированных с изучаемым фенотипом. **Цель исследования:** Провести систематический анализ данных, имеющих в современной литературе, о возможностях метода Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) и его различных модификаций (GMDR, MB-MDR) при изучении ген-генных и генно-средовых взаимодействий. **Материалы и методы:** В обзор включены современные данные зарубежных и отечественных статей, найденные в Pubmed по данной теме. **Результаты:** Метод MDR дает возможность оценивать ген-генные и генно-средовые взаимодействия, ассоциированные с качественными фенотипами с учетом коррекции на качественные ковариаты и проводить их валидацию с помощью пермутационного теста. Так же он позволяет проводить кросс-валидацию моделей, оценивать характер (synergy, additive, redundancy) и силу (доля вклада в энтропию) этих взаимодействий и их визуализировать графически. Данный метод не дает возможность изучать количественные фенотипы и учитывать количественные ковариаты. Метод MB-MDR позволяет анализировать межгенные и генно-средовые взаимодействия, ассоциированные с качественными и количественными фенотипами, учитывать в анализе ковариаты, проводить валидацию полученных моделей с помощью пермутационного теста, а также определять отдельные комбинации факторов, ассоциированные с исследуемыми фенотипами с учетом ковариат и значимости (рисковое или протективное значение). Метод GMDR дает возможность оценивать ген-генные и генно-средовые взаимодействия, ассоциированные с качественными фенотипами с учетом коррекции на качественные и количественные ковариаты, проводить их валидацию с помощью пермутационного теста и визуализировать графически, позволяет проводить кросс-валидацию наиболее значимых моделей с учетом коррекции на ковариаты и множественные сравнения (пермутационный тест). **Заключение:** При генетико-эпидемиологическом исследовании наиболее оптимальным является использование вначале метода MB-MDR для установления наиболее значимых SNP×SNP и генно-средовых взаимодействий, их валидация с помощью пермутационного те-

ста, а также определение конкретных комбинаций, ассоциированных с исследуемым фенотипом. Далее с помощью метода GMDR проведение кросс-валидации наиболее значимых моделей с учетом коррекции на ковариаты и множественные сравнения (пермутационный тест). Затем использование метода MDR для оценки характера (synergy, additive, redundancy) и силы (доля вклада в энтропию) SNP×SNP и генно-средовых взаимодействий и их графической визуализации.

Ключевые слова: полиморфизм; ассоциации; SNP×SNP взаимодействия; генно-средовые взаимодействия; MDR; MB-MDR; GMDR

Информация для цитирования: Пономаренко И.В. Использование метода Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) и его модификаций для анализа ген-генных и генно-средовых взаимодействий при генетико-эпидемиологических исследованиях (обзор) // Научные результаты биомедицинских исследований. 2019. Т.5, № 1. С. 4-21 [Ponomarenko IV. Using the method of Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) and its modifications for analysis of gene-gene and gene-environment interactions in genetic-epidemiological studies (review). Research Results in Biomedicine. 2019;5(1):4-21 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-1

Irina V. Ponomarenko

Using the method of Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) and its modifications for analysis of gene-gene and gene-environment interactions in genetic-epidemiological studies (review)

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

Corresponding author: Irina V. Ponomarenko (ponomarenko_i@bsu.edu.ru)

Abstract

Background: In the genetic and epidemiological study of multifactorial signs (diseases), an important task is to assess the genetic and genetic-environmental interactions associated with the studied phenotype. **The aim of the study:** To carry out a systematic analysis of the data available in the modern literature on the possibilities of the method of Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) and its various modifications (GMDR, MB-MDR) in the study of gene-gene and gene-environment interactions. **Materials and methods:** The review includes modern data of foreign and domestic articles on this topic found in Pubmed. **Results:** The MDR method makes it possible to evaluate gene-gene and gene-environment interactions associated with qualitative phenotypes, taking into account the correction for qualitative covariates and to carry out their validation using a permutation test. It also allows for cross-validation of models, assessment of the nature (synergy, additive, redundancy) and strength (contribution to entropy) of these interactions and their graphical visualization. This method makes it impossible to study quantitative phenotypes and to take into account quantitative covariates. The MB-MDR method allows to analyze the intergenic and gene-environment interactions associated with qualitative and quantitative phenotypes, to take into account covariates in the analysis, to validate the obtained models using the permutation test, and to determine individual combinations of factors associated with the studied phenotypes, taking into account covariates and significance (risk or protective value). The GMDR method makes it possible to evaluate gene-gene and gene-environment interactions associated with qualitative phenotypes with regard to correction for qualitative and quantitative covariates, to carry out their validation using the permutation test and visualize graphically; it

allows for cross-validation of the most significant models, taking into account correction for covariates and multiple comparisons (permutation test). **Conclusion:** In the genetic-epidemiological study, the most optimal method is to use the MB-MDR method to establish the most significant SNP×SNP and gene-environment interactions, their validation by means of the permutation test, as well as to determine the specific combinations associated with the phenotype under study. Next, using the GMDR method, cross-validation of the most significant models, taking into account the correction for covariates and multiple comparisons (permutation test), and, finally, the use of the MDR method to estimate the nature (synergy, additive, redundancy) and strength (contribution to entropy) of SNP×SNP and gene-environment interactions and their graphical visualization.

Keywords: polymorphism; associations; SNP×SNP interactions; gene-environment interactions; MDR; MB-MDR; GMDR

При генетико-эпидемиологическом исследовании мультифакториальных признаков важной задачей является оценка ген-генных и генно-средовых взаимодействий, ассоциированных с развитием исследуемого фенотипа. Это связано с тем, что наряду с главными эффектами полиморфных локусов значимую роль при формировании мультифакториальных фенотипов (как качественных – например, развитие заболевания, так и количественных, например уровень артериального давления или возраст менархе) имеют ген-генные (эпистатические) взаимодействия и генно-средовые взаимодействия (взаимодействия полиморфных локусов со средовыми факторами риска), вклад которых в развитие сложно наследуемых признаков весьма существен [1-3]. Существуют различные методы оценки ген-генных и генно-средовых взаимодействий, вовлеченных в развитие как качественных, так и количественных признаков (регрессионный анализ, метод монте-карло марковскими цепями, снижения размерности) [4-8].

Одним из методов, позволяющих оценить межгенные взаимодействия, является регрессионная модель анализа взаимодействия генов, реализованная в программном обеспечении gPLINK v2.050 в рамках использования процедуры «epistasis» [4]. Для оценки бивариантного признака (например, «больной-здоровый») используется модель логистической регрессии, предполагающая, что вероятность события (формирование заболевания) описывается как логическая функция от линейной комбинации независимых переменных (факторов-предикторов,

в данном случае полиморфных локусов). При анализе количественных фенотипов (уровень артериального давления, возраст менархе, рост, вес тела, индекс массы тела и др.) используется линейная регрессия от факторов-предикторов. При необходимости в регрессионный анализ включаются ковариаты. Следует отметить, что ограничением данного метода является возможность анализа только двух-локусных взаимодействий и отсутствие процедуры валидации результатов с учетом множественных сравнений. Изучение эпистатических взаимодействий полиморфных локусов с использованием программного обеспечения gPLINK v2.050 посвящены многочисленные работы [9, 10].

Другим методом, используемым для решения задачи оценки ген-генных взаимодействий, является метод Монте-Карло Марковскими цепями (Markov Chain Monte Carlo, MCMC), реализованный в программном обеспечении APSampler (<http://sources.redhat.com/cygwin>). В рамках данной программы осуществляется поиск генетических паттернов (сочетания генетических вариантов различных локусов), ассоциированных с фенотипическим признаком (заболеванием) [5, 6]. Поиск паттернов осуществляется с помощью процедуры Монте-Карло Марковскими цепями, при этом на каждом шаге рассматривается сразу несколько паттернов, а их набор оптимизируется от шага к шагу с точки зрения вероятности того, что все паттерны из набора независимо друг от друга и одновременно ассоциированы с признаком. Вероятность

ассоциации каждого паттерна оценивается непараметрическим критерием Вилкоксона, при этом сравниваемые подгруппы устроены так, что они отличаются носительством только одного паттерна из набора. В результате этого этапа формируется список паттернов, ассоциированных с развитием заболевания. На следующем этапе происходит валидация этих данных. Для каждого паттерна из списка вычисляется значимость ассоциации по Фишеру. Далее программа несколько раз перемешивает метку фенотипического признака и еще раз запускает поиск ассоциированных паттернов. Достоверности ассоциации по результатам запусков с перемешанным фенотипом дают распределение достоверностей находок при условии нулевой гипотезы, утверждающей отсутствие действительных ассоциаций в начальных данных. Это нулевое распределение используется для валидации сочетаний, найденных на первом этапе [6]. Сила ассоциации оценивается показателем отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом (95%CI). Коррекция на множественные сравнения проводится с помощью поправки Бонферрони, метода FDR, пермутационного теста. Следует отметить, что ограничением этого метода является невозможность проведения кофакторного анализа, а также он не позволяет изучать генно-средовые взаимодействия. Программное обеспечение APSampler и используемый в нем метод Монте-Карло Марковскими цепями (Markov Chain Monte Carlo, MCMC) для решения задач оценки ген-генных взаимодействий активно применяется в исследовательских работах [11-14].

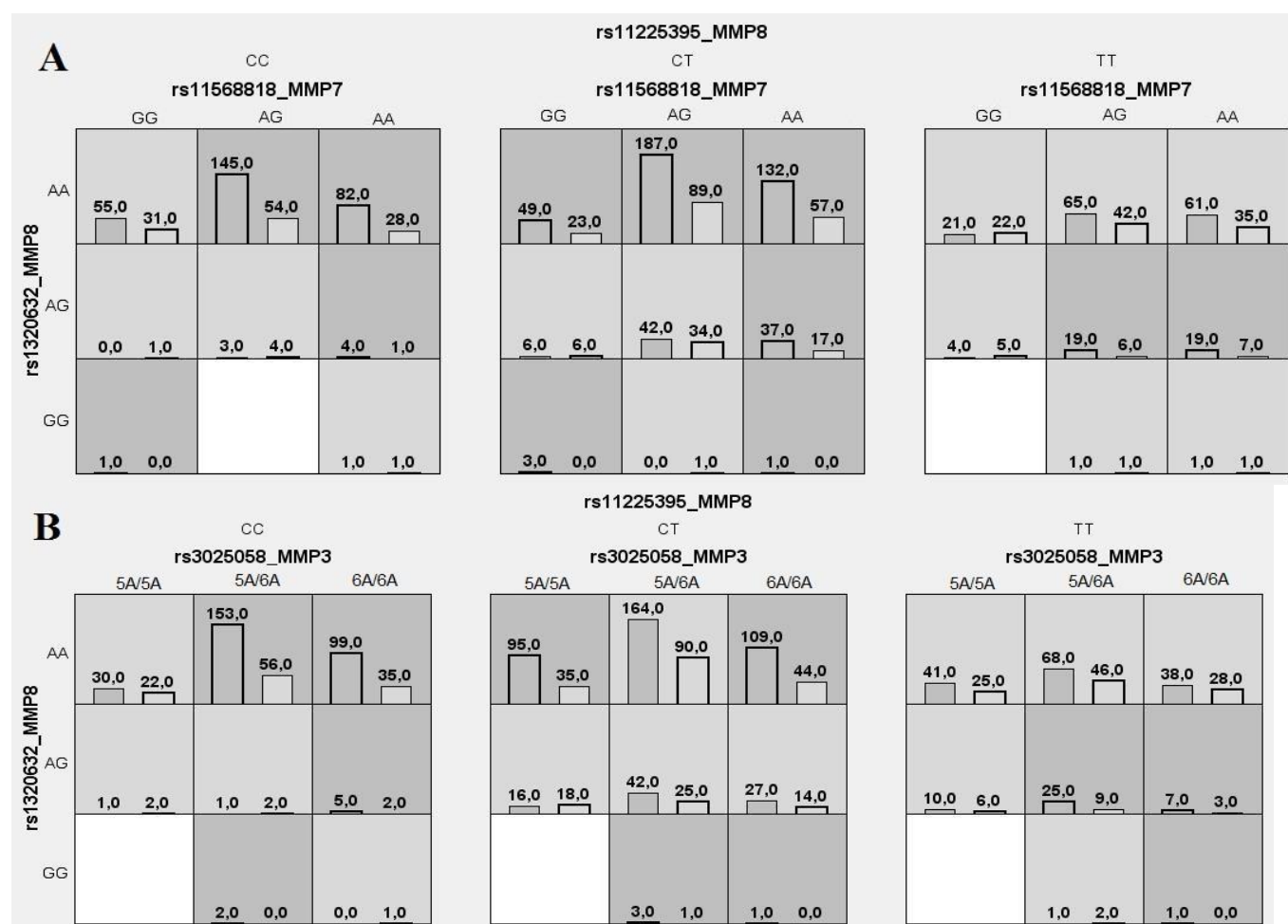
Широкое распространение в генетико-эпидемиологических исследованиях как зарубежных [7, 15-28] так и российских ученых [29, 30] в последние годы получает метод снижения размерности – MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) и его модификации (GMDR, MB-MDR). Данный метод, дает возможность оценить как ген-генные, так и генно-средовые взаимодействия, ассоциированные с формированием мультифакториального фенотипа. Метод снижения размерности MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) позволяет уменьшить размер-

ность числа рассчитываемых параметров при одновременной оценке взаимодействий большого количества полиморфизмов за счет конструирования новых переменных на основе суммирования сочетаний генотипов повышенного и пониженного риска формирования заболевания [7, 8, 31].

Метод MDR является непараметрическим [8], он не предполагает какой-то модели наследования признака и поэтому может быть использован для анализа любых фенотипов без априорных предположений. Алгоритм проведения MDR метода представлен следующими этапами. На первом этапе MDR-анализа исходные данные случайным образом делятся на две выборки: обучающую (9/10 данных) и тестовую (1/10 данных). Затем, для каждой комбинации аллелей и генотипов, присутствующей в обучающей выборке, рассчитывается параметр, характеризующий соотношение количества больных и здоровых, несущих эту комбинацию, и в зависимости от величины этого параметра комбинации классифицируются на категории высокого и низкого риска. В результате этого осуществляется переход от n -мерного пространства всех единичных полиморфных участков и фенотипа к двумерному пространству, где одно измерение – это уровень риска, а второе – носительство данной комбинации аллелей. Среди всех возможных выделяются комбинации с наименьшей ошибкой классификации в обучающей и тестовой выборках. Следует отметить, что деление на группы осуществляется 10 раз на основе изменяемых каждый раз параметров генератора случайных чисел (рисунок 2). При этом показатель согласованности модели (Cross Validation Consistency – CVC) показывает, сколько раз из этих 10 она идентифицировалась как лучшая. В результате MDR анализа выявляются наилучшие модели для 2n, 3n, 4n и т.д. сочетаний SNP т.е. модели, имеющие наибольший показатель согласованности (CVC) и наименьшую ошибку предсказания (наибольшую точность предсказания модели – Testing Balanced Accuracy). Модель считается валидированной, если ее согласованность 9/10 и более [7, 8, 31].

Метод MDR реализован в программном обеспечении MDR (<http://sourceforge.net/projects/mdr>). Коррекция на множественные сравнения в данном случае проводится с помощью пермутационного теста в программном обеспечении MDRpt (<http://sourceforge.net/projects/mdr/files/mdrpt>). Следует отметить, что программное обеспечение метода MDR позволяет построить дендрограмму или граф и таким образом визуализировать рассматриваемые ген-генные и генно-средовые взаимодействия, а также оценить характер этих взаимодействий (synergy, additive, redundancy) и их силу (доля вклада в энтропию). В работе Москаленко М.И. [32] представлены данные, полученные с использованием метода

MDR при анализе взаимодействия полиморфных локусов матричных металлопротеиназ (MMP), ассоциированных с развитием гипертонической болезни. На рисунке 1 представлены данные, характеризующие комбинации генотипов повышенного (темно-серые ячейки), пониженного (светло-серые ячейки) и отсутствия (белые ячейки) риска в рамках наиболее значимых моделей межгенных взаимодействий (A, B, C, D – обозначение моделей). На рисунке 2 представлены дендрограмма (A) и граф (B) межгенных взаимодействий *MMP* при формировании эссенциальной гипертензии, демонстрирующие характер этих взаимодействий (synergy, additive, redundancy) и их силу (доля вклада в энтропию).



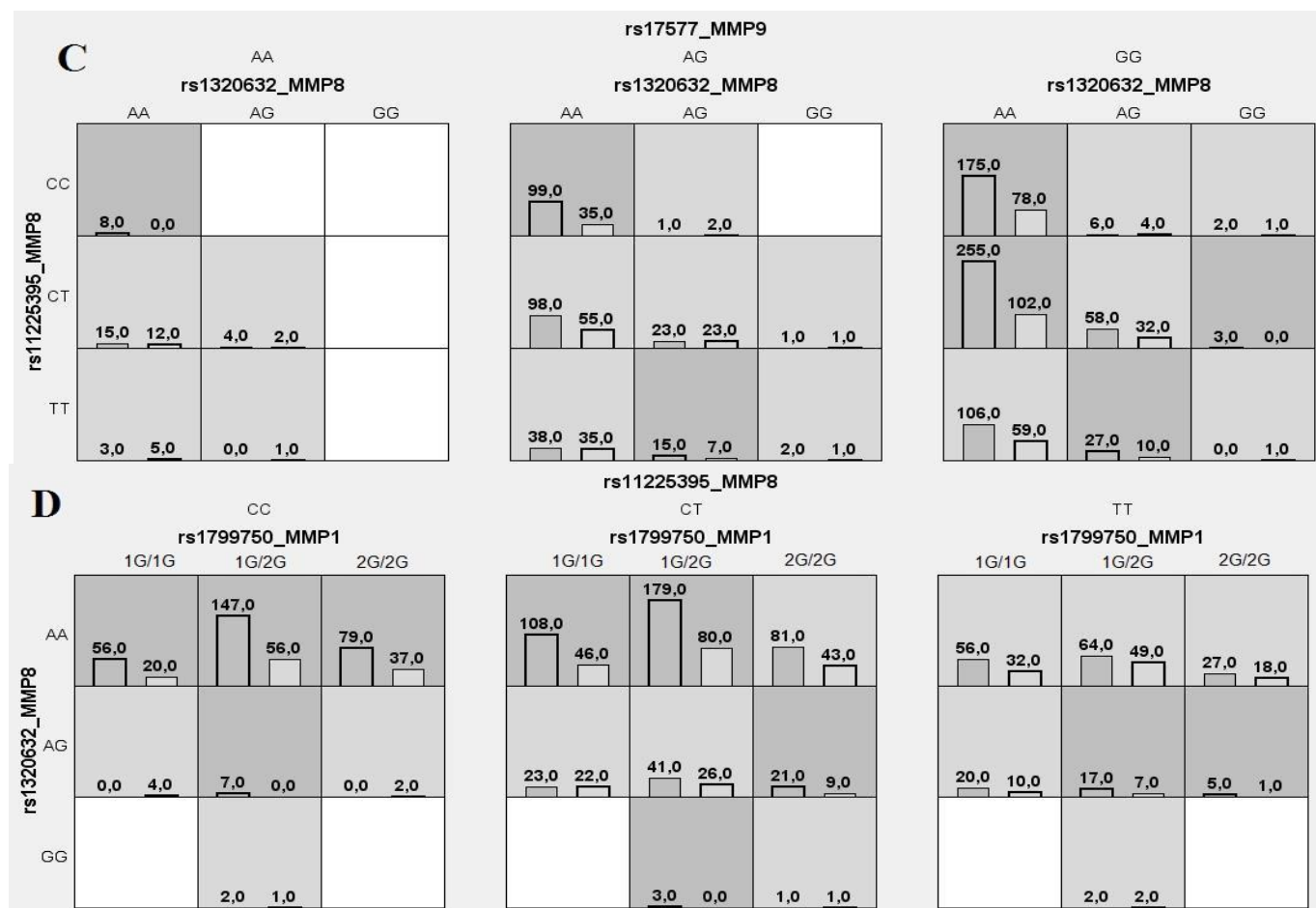


Рис. 1. Диаграмма моделей взаимодействий полиморфных локусов *MMP* при формировании эссенциальной гипертензии (ЭГ)

Примечание: получено методом MDR, здесь и далее темно-серые ячейки – комбинации повышенного риска, светло-серые – пониженного риска, белые – сочетания комбинаций генотипов отсутствуют. Столбики слева – количество больных с ЭГ, столбики справа – число индивидиу-мов контрольной группы; А, В, С, D – обозначение моделей межгенных взаимодействий (дан-ные получены Москаленко М.И. [32]).

Fig. 1. Diagram of interaction models of polymorphic *MMP* loci during the formation of essen- tial hypertension (EH)

Note: obtained by the MDR method, hereinafter, dark gray cells – combinations of increased risk, light gray – reduced risk, white – combinations of combinations of genotypes are absent. The bars on the left are the number of patients with EH, the bars on the right are the number of individuals in the control group; A, B, C, D – designation of models of intergenic interactions (data obtained by Moskalenko M.I. [32]).

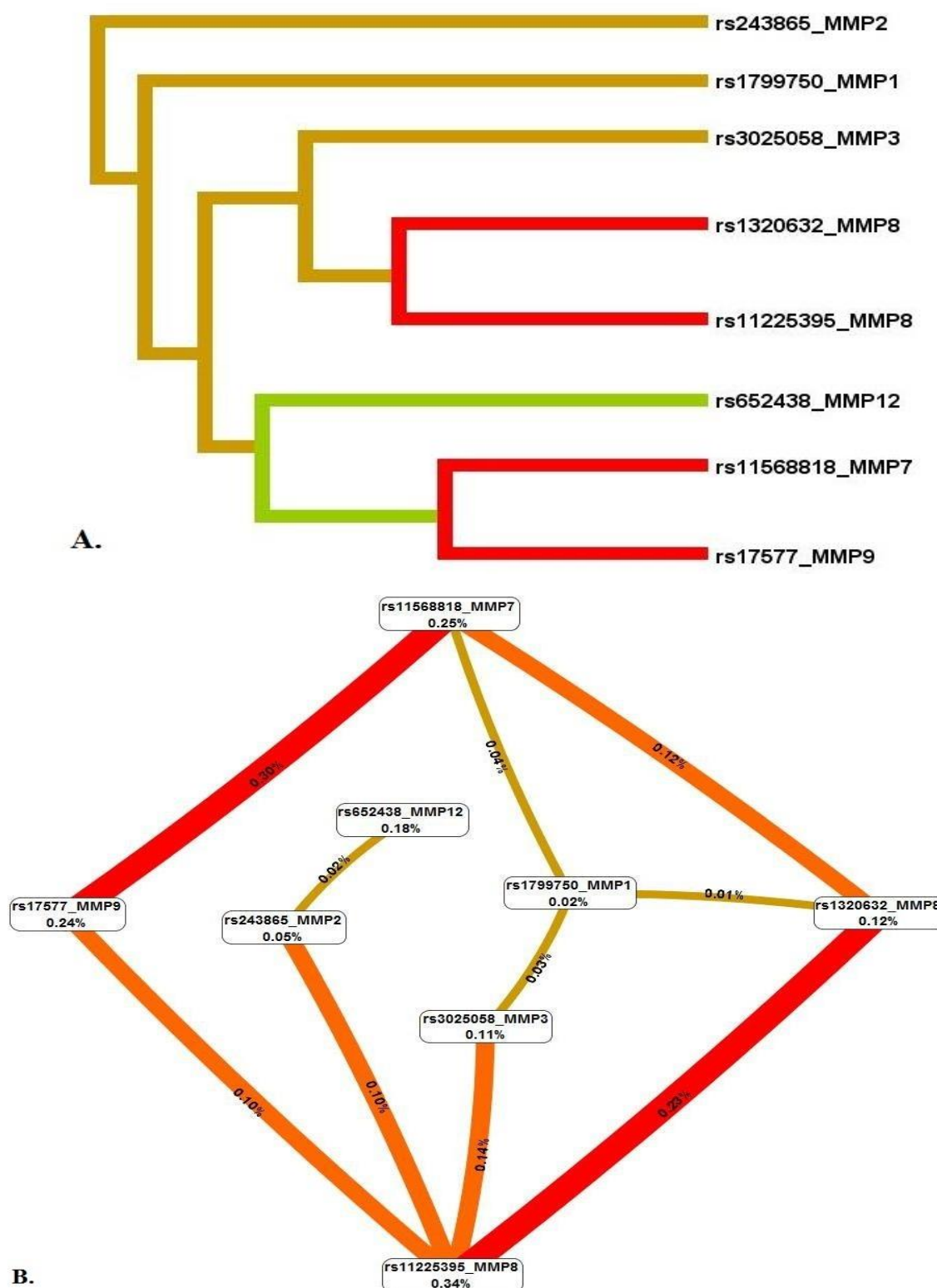


Рис. 2. Дендрограмма (А) и граф (В) межгенных взаимодействий *MMP* при формировании эссенциальной гипертензии

Примечание: характер взаимодействия между *MMP* при формировании фенотипа характеризуется цветом линии: красный – выраженный синергизм, оранжевый – умеренный синергизм, синий – коричневый – аддитивное взаимодействие. Сила и направленность взаимодействия выражены в % энтропии (данные получены Москаленко М.И. [32]).

Fig. 2. Dendrogram (A) and graph (B) of intergenic interactions of *MMPs* during the development of essential hypertension

Note: the nature of the interaction between the *MMP* in the formation of the phenotype is characterized by the color of the line: red – pronounced synergism, orange – moderate synergism, blue – brown – additive interaction. The strength and direction of interaction are expressed in% entropy (data obtained by Moskalenko M.I. [32]).

Таким образом, метод MDR дает возможность оценивать ген-генные и генно-средовые взаимодействия, ассоциированные с качественными фенотипами с учетом коррекции на качественные ковариаты и проводить валидацию с помощью пермутационного теста. Так же он позволяет проводить кросс-валидацию моделей (определение показателей согласованности (CVC), точности предсказания (Testing Balanced Accuracy), чувствительности (S_e) и специфичности (S_p) моделей), оценивать характер (synergy, additive, redundancy) и силу (доля вклада в энтропию) SNP×SNP и генно-средовых взаимодействий и их визуализировать в виде графа. При этом, данный метод не дает возможность изучать количественные фенотипы и учитывать количественные ковариаты, а также получать точное значение p_{perm} .

К настоящему времени разработано достаточно большое количество модификаций метода MDR – Generalized MDR (GMDR), Pedigree-based GMDR (PGMDR), Cox-based MDR (Cox-MDR), Pair-wise MDR (PW-MDR), Quantitative MDR (QMDR) и др. [7], адаптированные под отдельные программные оболочки (MATLAB, Java, Python, R и др.) и характеризующиеся своими «исследовательскими» особенностями: возможность учитывать качественные и количественные ковариаты при анализе, изучение небольших объемов выборок, исследование качественных и количественных фенотипов, проведение пермутационных процедур и т.д. С более детальными характеристиками этих модификаций метода MDR можно ознакомиться в работе Gola D et al. [7]. В настоящей работе мы рассмотрим две модификации метода MDR – MB-MDR и GMDR, которые мы использовали в наших исследованиях.

Метод Model-Based-MDR (MB-MDR), в отличие от MDR, позволяет анализировать межгенные взаимодействия, ассоциированные как с качественными (развитие заболевания), так и с количественными признаками,

учитывать в анализе ковариаты и проводить валидацию полученных моделей с помощью пермутационного теста. Следует отметить, что метод MB-MDR, отличается высокой статистической мощностью при наличии генетической гетерогенности [33, 34]. При проведении MD-MDR анализа выделяются 3 категории генотипов – высокого риска, низкого риска и не влияющие на риск. Далее каждая группа комбинаций генотипов сравнивается с двумя другими группами и результатом этого является выделение нескольких комбинаций генотипов, связанных (согласно статистики Вальда и уровня значимости ассоциации) с исследуемым фенотипом. Далее для каждой тестируемой комбинации выбирается вариант, соответствующий максимальному значению статистики Вальда и затем определяется экспериментальный уровень значимости с помощью пермутационного теста.

При использовании метода MD-MDR наиболее оптимальной является кодоминантная схема кодирования полиморфных локусов, обеспечивающая наилучший баланс между уровнем ошибки 1-го рода и мощностью исследования [35, 36]. В рамках метода MD-MDR проводится тестирование как правило двух-, трех- и четырехлокусных (факторных) комбинаций. Хотя данный метод позволяет учитывать комбинации и большего числа факторов. При необходимости в анализ включаются ковариаты (как качественные, так и количественные). В конечном итоге рассматриваются модели (в среднем 3-4 модели каждого уровня) с наибольшими статистиками Вальда и уровнем значимости. Валидация результатов проводится с помощью пермутационного теста. Также, с помощью метода MB-MDR устанавливаются отдельные комбинации генотипов (и факторов риска), ассоциированные с исследуемыми фенотипами, с расчетом их статистической значимости. Метод MB-MDR (Model Based Multifactor Dimensionality Reduction) реализован в про-

граммном обеспечении MB-MDR (Version 2.6) для программной среды **R**.

Таким образом, метод MB-MDR позволяет анализировать межгенные и генно-средовые взаимодействия, ассоциированные с качественными и количественными фенотипами, учитывать в анализе ковариаты, проводить валидацию полученных моделей с помощью пермутационного теста, а также определять отдельные комбинации генотипов (и факторов среды), ассоциированные с исследуемыми фенотипами с учетом их уровня значимости. При этом, программное обеспечение метода MB-MDR не дает возможность визуализировать графически (в виде графа или дендрограммы) установленные ген-генные и генно-средовые взаимодействия.

Метод Generalized MDR (GMDR) [37, 38] (<http://www.ssg.uab.edu/gmdr>), реализованный в программном обеспечении GMDR (software Beta 0.9) (<http://sourceforge.net/projects/gmdr>) является модификацией метода MDR и основан на тех же принципах что и этот метод. Он позволяет оценивать ассоциации качественных фенотипов с различными комбинациями генотипов и факторов среды в рамках 2-х, 3-х, п-локусных моделей. Следует отметить, что программное обеспечение метода GMDR позволяет построить граф (дендрограмму) и таким образом визуализировать рассматриваемые ген-генные и генно-средовые взаимодействия, а также оценить характер этих взаимодействий (synergy, additive, redundancy). При расчетах метод GMDR позволяет учитывать как качественные, так и количественные ковариаты. Данный метод дает возможность проводить кросс-валидацию наиболее значимых моделей с расчетом показателей согласованности (CVC), точности предсказания (Testing Balanced Accuracy), чувствительности (S_e) и специфичности (S_p) моделей, при этом так же учитываются ковариаты. Коррекция на множественные

сравнения проводится с помощью пермутационного теста в Perl script ("perl GMDR_permutatin.pl") программного обеспечения GMDR (software Beta 0.9). При этом указывается необходимое количество пермутаций (разработчики метода GMDR отмечают, что для получения р-значения на уровне 0,001 необходимо 1000 пермутаций, а для получения р-значения на уровне 0,0001 должно быть 10000 пермутаций) и необходимой число кросс-валидаций (разработчики указывают, что при объеме выборки до 500 человек достаточно 5 кросс-валидаций, а при выборке более 1000 человек необходимо 10 кросс-валидаций). При пермутационном тесте так же возможна коррекция на ковариаты. Следует отметить, что метод GMDR не позволяет изучать ген-генные и генно-средовые взаимодействия, ассоциированные с количественными признаками.

В таблице 1 и на рисунке 3 представлены данные, полученные Милановой С.Н. [39] с использованием метода GMDR при анализе генно-средовых взаимодействий полиморфных локусов цитокинов с употреблением алкоголя, ассоциированных с развитием инсульта на фоне гипертонической болезни. В таблице приведены наиболее значимые модели генно-средовых взаимодействий, ассоциированные с развитием инсульта на фоне гипертонической болезни, а также результаты их кросс-валидации (показатели воспроизводимости моделей (CVC) и точности предсказания моделей (Test Bal. Acc.)) и пермутационных процедур. На рисунке 6 представлены дендрограмма (А) и граф (В) генно-средовых взаимодействий, ассоциированные с развитием инсульта на фоне гипертонической болезни, демонстрирующие характер этих взаимодействий (synergy, additive, redundancy) и их силу (доля вклада в энтропию).

Таблица 1

Наиболее значимые модели генно-средовых взаимодействий полиморфных локусов цитокинов с употреблением алкоголя, ассоциированные с развитием инсульта на фоне гипертонической болезни

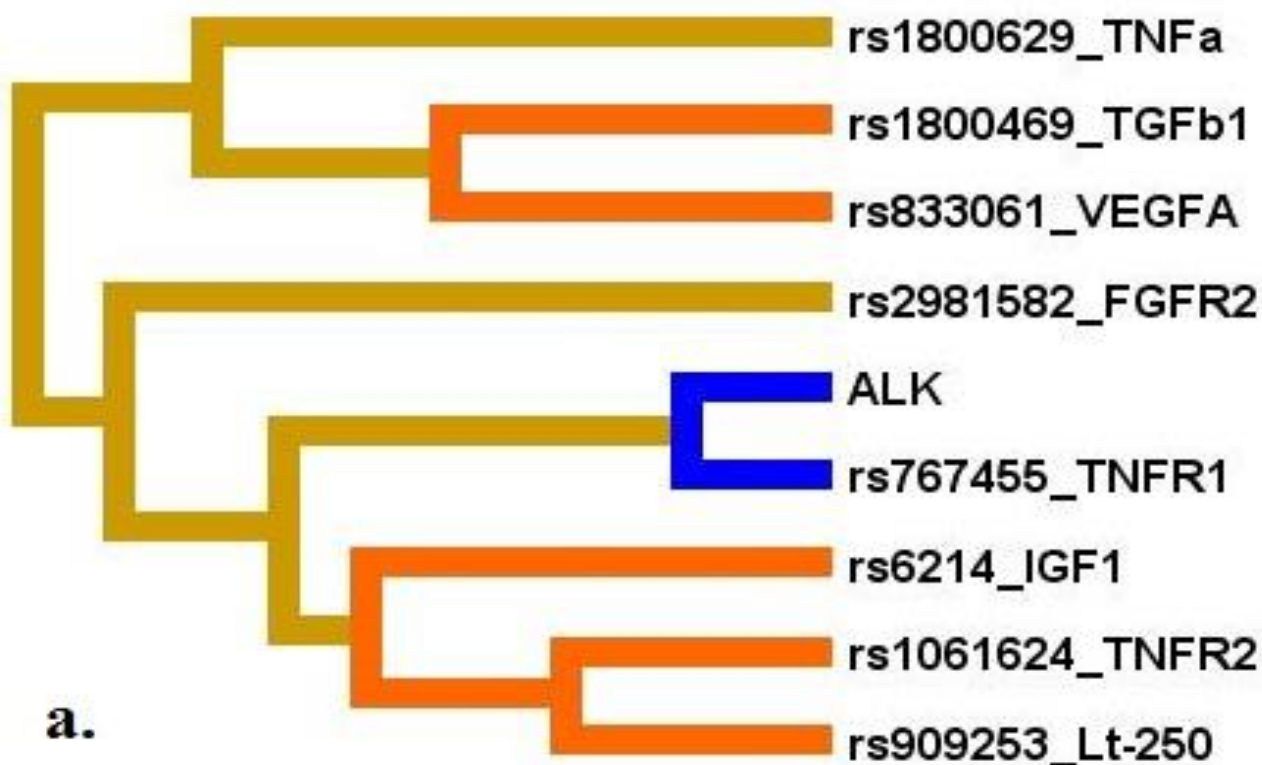
Table 1

The most significant models of gene-environment interactions of polymorphic cytokine loci with alcohol use, associated with the development of stroke associated with hypertension

Модель	Модель генно-средовых взаимодействий	OR (95%CI)	Test Bal. Acc.	p
A	ALK×rs1800629 TNFα×rs767455 TNFR1×rs1061624 TNFR2×rs909253 Ltα	3,84 (2,40-6,14)	59,42	0,001
B	ALK×rs1800629 TNFα×rs767455 TNFR1×rs1061624 TNFR2×rs6214 IGF1	3,25 (2,06-5,12)	53,29	0,011

Примечание: получены в программе GMDR с коррекцией на уровни ТГ, ЛПВП, курение, подверженность частым стрессовым ситуациям; воспроизводимость моделей (CVC) составила 100%; Test Bal. Acc. – точность предсказания модели (%), проведен пермутационный тест – выполнено 1000 пермутаций при 10 кросс-валидациях, что обеспечивает $p_{perm} < 0,001$ (данные получены Милановой С.Н. [39]).

Note: obtained in the GMDR program with correction for levels of TG, HDL, smoking, exposure to frequent stressful situations; model reproducibility (CVC) was 100%; Test Bal. Acc. – model prediction accuracy (%), permutation test was carried out – 1000 permutations were performed with 10 cross-validations, which ensures $perm < 0.001$ (data obtained by Milanova S.N. [39]).



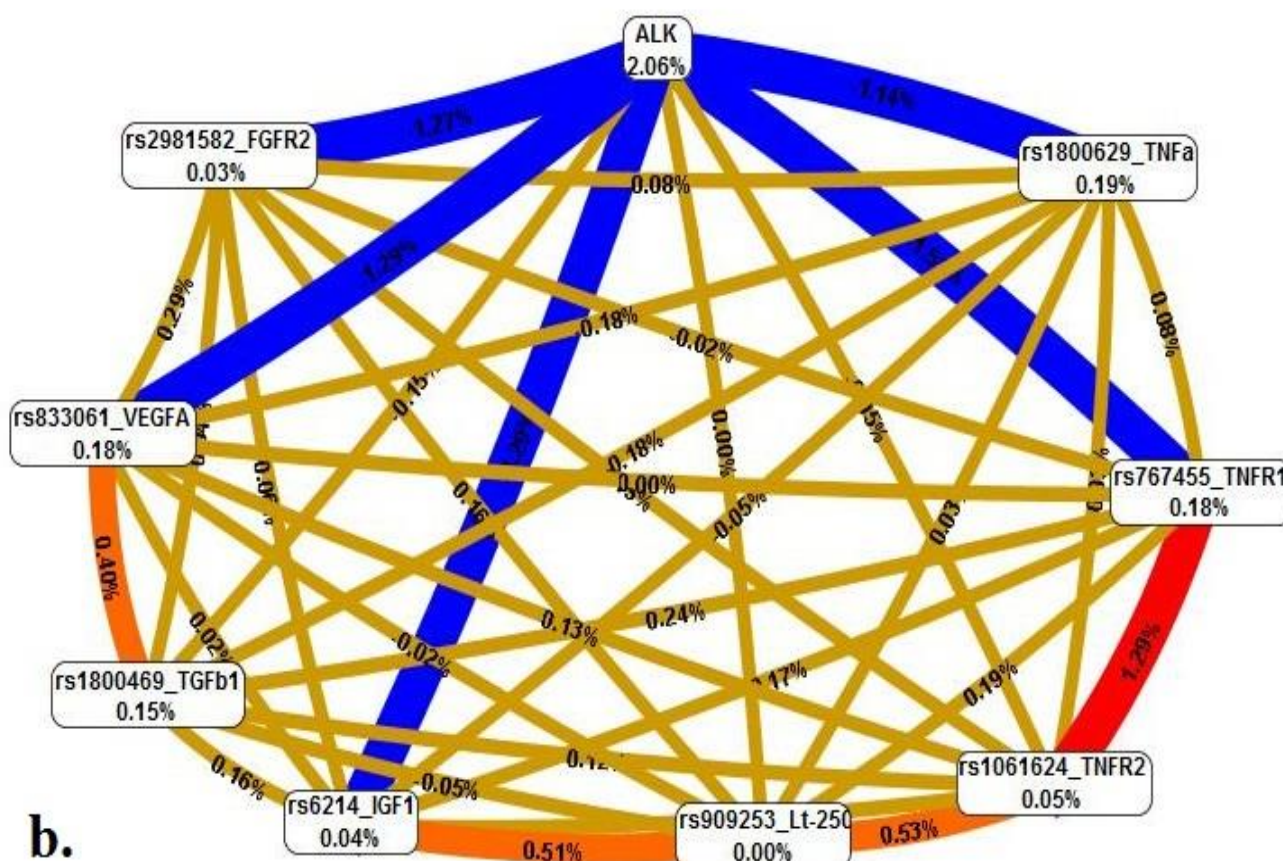


Рис. 3. Дендрограмма (А) и граф (В) генно-средовых взаимодействий полиморфных локусов цитокинов и употребления алкоголя при формировании ишемического инсульта на фоне гипертонической болезни

Примечание: направленность взаимодействий между генами-кандидатами при формировании фенотипа обозначаются линиями разного цвета: красного – выраженный синергизм, оранжевого – умеренный синергизм, синего – выраженный антагонизм, зеленого – умеренный антагонизм, коричневого – аддитивное взаимодействие. Сила и направленность взаимодействий представлены в % энтропии (данные получены Милановой С.Н. [39]).

Fig. 3. Dendrogram (A) and graph (B) of gene-environment interactions of polymorphic loci of cytokines and alcohol use during the development of ischemic stroke associated with hypertension

Note: the orientation of the interactions between candidate genes during the formation of the phenotype is indicated by lines of different colors: red – pronounced synergism, orange – moderate synergism, blue – pronounced antagonism, green – moderate antagonism, brown – additive interaction. The strength and direction of interactions are represented in % entropy (data obtained by Milanovoy S.N. [39]).

Таким образом, метод GMDR дает возможность оценивать ген-генные и генно-средовые взаимодействия, ассоциированные с качественными фенотипами с учетом коррекции на качественные и количественные ковариаты, проводить валидацию с помощью пермутационного теста, оценивать ха-

рактер (synergy, additive, redundancy) и силу (доля вклада в энтропию) SNP×SNP и генно-средовых взаимодействий и их визуализировать в виде графа. Так же метод GMDR позволяет проводить кросс-валидацию наиболее значимых моделей взаимодействий с учетом коррекции на ковариаты и

коррекцию на множественные сравнения с помощью пермутационного теста.

В качестве примера эффективности использования метода MDR и его модификации MB-MDR для оценки ген-генных взаимодействий, ассоциированных с формированием количественных мультифакториальных признаков, приведем полученные нами результаты генетико-эпидемиологического исследования возраста менархе, опубликованные в журналах GENE [40]. Нами с помощью метода MB-MDR изучены ассоциации ген-генных взаимодействий 52 SNPs с возрастом менархе у женщин России. Выборка для исследования составила 1613 женщин. Для генетико-статистического анализа использовались трансформированные значения возраста менархе в связи с тем, что его распределение в исследуемой выборке отличалось от нормального. Изучение межгенных взаимодействий проводилось с коррекцией на коварианты – год рождения (дискретная переменная) и наличие изолированных или сочетанных доброкачественных опухолей и гиперпластических процессов матки (дискретная переменная). В работу включались наиболее значимые модели ген-генных взаимодействий: $p < 1 \cdot 10^{-4}$ для двухлокусных моделей, $p < 1 \cdot 10^{-7}$ для трехлокусных моделей, $p < 1 \cdot 10^{-12}$ для четырехлокусных моделей. Коррекция на множественные сравнения проводилась с помощью пермутационного теста (выполнялось 1000 пермутаций) для отобранных для исследования наиболее значимых 2-х, 3-х и 4-х локусных моделей. Статистически значимыми считали модели с $p_{perm} < 0,01$. Оценка характера (synergy, additive, redundancy) и силы (доля вклада в энтропию) межгенных взаимодействий, а также их визуализация в виде графа проводилась с помощью метода MDR. Установлено,

что 14 полиморфных локусов из 52 изученных SNPs ассоциированы с возрастом менархе в составе 12 наиболее значимых 2-х, 3-х и 4-х локусных моделей ген-генных взаимодействий ($p_{perm} \leq 0,006$). Выявлены антагонистические взаимодействия 4 полиморфных локусов (определяют -0,25 – -0,39% энтропии признака) (рисунок 4) – rs6438424 3q13.32, rs1073768 GHRH, rs4946651 LIN28B, rs314276 LIN28B (на рисунке линии их объединяющие окрашены в синий цвет) и синергизм (детерминируют 0,31-0,37% энтропии) в ген-генных взаимодействиях 6 SNPs – rs1073768 GHRH, rs7579411 LHCGR, rs7759938 LIN28B, rs4374421 LHCGR, rs6589964 BSX, rs10769908 STK33 (на рисунке линии их объединяющие окрашены в красный цвет).

Итак, проведенный анализ литературных данных позволяет заключить, что при изучении ассоциаций полиморфных локусов с мультифакториальными признаками (как качественными – заболеваниями, так и количественными) наиболее оптимальным является использование вначале метода MB-MDR для установления наиболее значимых SNP×SNP и генно-средовых взаимодействий, их валидация с помощью пермутационного теста, а также определение конкретных комбинаций, ассоциированных с развитием исследуемого фенотипа. Далее с помощью метода GMDR проведение кросс-валидации наиболее значимых моделей взаимодействий с учетом коррекции на ковариаты и коррекцию на множественные сравнения с помощью пермутационного теста. Затем использование метода MDR для оценки характера (synergy, additive, redundancy) и силы (доля вклада в энтропию) SNP×SNP и генно-средовых взаимодействий и их визуализации в виде графа.

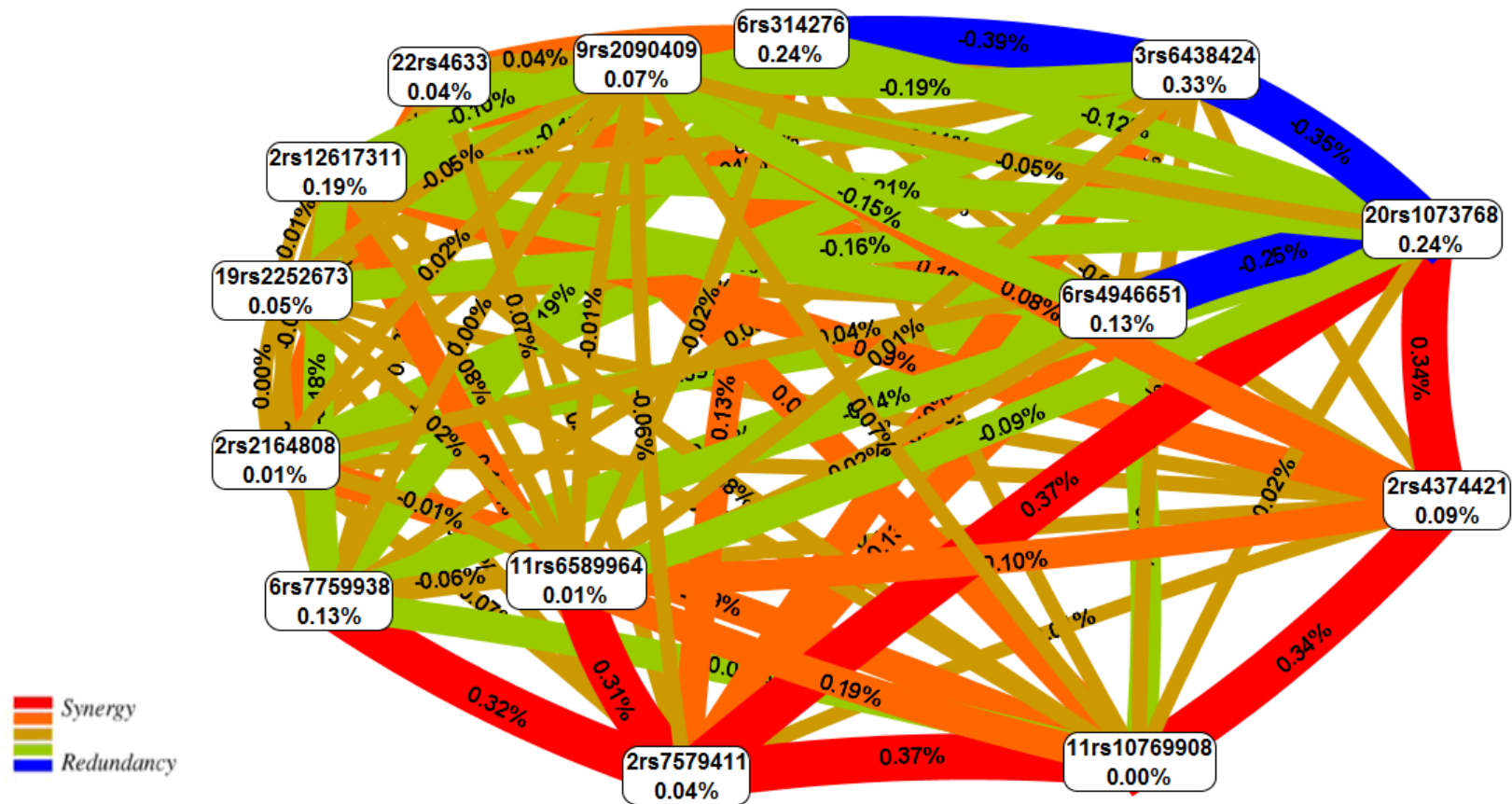


Рис. 4. Граф SNP×SNP взаимодействий, ассоциированных с возрастом менархе (получен методом MDR)

Примечание: Характеризует силу и направленность влияния полиморфизмов или сочетания полиморфизмов на возраст менархе (трансформированные значения) (% энтропии). При обозначении полиморфизма указаны хромосома и rs SNP. Цвет линии отражает характер взаимодействия между полиморфизмами: красный и оранжевый указывает на выраженный и умеренный синергизм, коричневый – независимый эффект отдельных локусов, зеленый и синий – умеренный и выраженный антагонизм соответственно [40].

Fig. 4. Graph SNP × SNP interactions associated with menarche age (obtained by the MDR method)

Note: Characterizes the strength and directionality of the influence of polymorphisms or combinations of polymorphisms on the age of menarche (transformed values) (% entropy). When referring to a polymorphism, the chromosome and rs SNP are indicated. The color of the line reflects the nature of the interaction between polymorphisms: red and orange indicates pronounced and moderate synergism, brown indicates the independent effect of individual loci, green and blue indicates moderate and pronounced antagonism, respectively [40].

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Dvornyk V., Haq W. Genetics of age at menarche: a systematic review // Human Reproduction Update. 2012. Vol. 18(2). P. 198-210. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmr050>
2. Genome-wide association studies and epistasis analyses of candidate genes related to age at menarche and age at natural menopause in a Korean population / J.A. Pyun [et al.] // Menopause. 2014. N 21. P. 522-9. DOI: 10.1097/GME.0b013e3182a433f7
3. A Novel Polymorphism in the Promoter of the *CYP4A11* Gene Is Associated with Susceptibility to Coronary Artery Disease / S. Sirotina [et al.] // Dis Markers. 2018. N 2018. P. 5812802. DOI:10.1155/2018/5812802
4. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses / S. Purcell [et al.] // Am J Hum Genet. 2007. N 81. P. 559-75. DOI: 10.1086/519795
5. A Markov Chain Monte Carlo Technique for Identification of Combinations of Allelic Variants Underlying Complex Diseases in Humans / A.V. Favorov [et al.] // Genetics. 2005. Vol. 171(4). P. 2113-2121. DOI: 1534/genetics.105.048090
6. Lvovs D., Favorova O.O., Favorov A.V. A Polygenic Approach to the Study of Polygenic Diseases // Acta naturae. 2012. Vol. 4(3(14)). P. 59-71.
7. A roadmap to multifactor dimensionality reduction methods / D. Gola [et al.] // Brief Bioinform. 2015. Vol. 17(2). P. 293-308. DOI: <https://doi.org/10.1093/bib/bbv038>
8. Multifactor-dimensionality reduction reveals high-order interactions among estrogen-metabolism genes in sporadic breast cancer / M.D. Ritchie [et al.] // Am J Hum Genet. 2001. Vol. 69(1). P. 138-47. DOI: <https://doi.org/10.1086/321276>
9. Genome Wide Association Study of Age at Menarche in the Japanese Population / C. Tanikawa [et al.] // PLoS ONE. 2013. Vol. 8(5). P. e63821. DOI:10.1371/journal.pone.0063821
10. Reverse Pathway Genetic Approach Identifies Epistasis in Autism Spectrum Disorders / I. Mitra [et al.] // PLoS Genet. 2017. Vol. 13(1). P. e1006516. DOI:10.1371/journal.pgen.1006516
11. Combinations of Polymorphic Markers of Chemokine Genes, Their Receptors and Acute Phase Protein Genes As Potential Predictors of Coronary Heart Diseases / T.R. Nasibullin [et al.] // Acta Naturae. 2016. Vol. 8(1). P. 111-6.
12. Variants of the Coagulation and Inflammation Genes Are Replicably Associated with Myocardial Infarction and Epistatically Interact in Russians / R.M. Barsova [et al.] // PLoS One. 2015. Vol. 10(12). P. e0144190. DOI:10.1371/journal.pone.0144190
13. Variants of MicroRNA Genes: Gender-Specific Associations with Multiple Sclerosis Risk and Severity / I. Kiselev [et al.] // Int J Mol Sci. 2015. Vol. 16(8). P. 20067-81. DOI:10.3390/ijms160820067
14. Genes of tumor necrosis factors and their receptors and the primary open angle glaucoma in the population of Central Russia / E. Tikunova [et al.] // Int J Ophthalmol. 2017. Vol. 10(10). P. 1490-1494. DOI:10.18240/ijo.2017.10.02
15. A Comparative Study on Multifactor Dimensionality Reduction Methods for Detecting Gene-Gene Interactions with the Survival Phenotype / S. Lee [et al.] // Biomed Res Int. 2015. N 2015. P. 671859. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/671859>
16. A Multiple Interaction Analysis Reveals ADRB3 as a Potential Candidate for Gallbladder Cancer Predisposition via a Complex Interaction with Other Candidate Gene Variations / R. Rai [et al.] // Int J Mol Sci. 2015. Vol. 16(12). P. 28038-49. DOI:10.3390/ijms161226077
17. Gene-gene and gene-environment interactions of childhood asthma: a multifactor dimension reduction approach / M.W. Su [et al.] // PLoS One. 2012. Vol. 7(2). P. e30694. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030694>
18. Interactions between genetic variants in AMH and AMHR2 may modify age at natural menopause / M.G. Braem [et al.] // PLoS One. 2013. Vol. 8(3). P. e59819. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059819>
19. The Cumulative Effect of Gene-Gene and Gene-Environment Interactions on the Risk of Prostate Cancer in Chinese Men / M. Liu [et al.] // Int J Environ Res Public Health. 2016. Vol. 13(2). P. 162. DOI:10.3390/ijerph13020162
20. Exploring the interaction among EPHX1, GSTP1, SERPINE2, and TGFB1 contributing to the quantitative traits of chronic obstructive pulmonary disease in Chinese Han population / L. An [et al.] // Hum Genomics. 2016. Vol. 10(1). P. 13. DOI:10.1186/s40246-016-0076-0
21. Effects of High-Order Interactions among IGFBP-3 Genetic Polymorphisms, Body Mass In-

dex and Soy Isoflavone Intake on Breast Cancer Susceptibility / Q. Wang [et al.] // PLoS One. 2016. Vol. 11(9). P. e0162970. DOI:10.1371/journal.pone.0162970

22.Genetic polymorphisms associated with the inflammatory response in bacterial meningitis / F.L. Fontes [et al.] // BMC Med Genet. 2015. N 16. P. 70. DOI:10.1186/s12881-015-0218-6

23.PACSIN2 polymorphism is associated with thiopurine-induced hematological toxicity in children with acute lymphoblastic leukaemia undergoing maintenance therapy / A. Smid [et al.] // Sci Rep. 2016. N 6. P. 30244. DOI:10.1038/srep30244

24.Interactions among variants in *TXA2R*, *P2Y12* and *GPIIIa* are associated with carotid plaque vulnerability in Chinese population / X. Yi [et al.] // Oncotarget. 2018. Vol. 9(25). P. 17597-17607. DOI:10.18632/oncotarget.24801

25.Genetic polymorphisms in *CDH1* are associated with endometrial carcinoma susceptibility among Chinese Han women / Y.H. Geng [et al.] // Oncol Lett. 2018. Vol. 16(5). P. 6868-6878. DOI: https://doi.org/10.3892/ol.2018.9469

26.Effect of GRM7 polymorphisms on the development of noise-induced hearing loss in Chinese Han workers: a nested case-control study / P. Yu [et al.] // BMC Med Genet. 2018. Vol. 19(1). P. 4. DOI:10.1186/s12881-017-0515-3

27.Dvl3 polymorphism interacts with life events and pro-inflammatory cytokines to influence major depressive disorder susceptibility / J. Zhang [et al.] // Sci Rep. 2018. Vol. 8(1). P. 14181. DOI:10.1038/s41598-018-31530-2

28.Childhood trauma interacted with BDNF Val66Met influence schizophrenic symptoms / X.J. Bi [et al.] // Medicine (Baltimore). 2018. Vol. 97(13). P. e0160. DOI: 10.1097/MD.00000000000010160

29.Polymorphisms of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 and risk of coronary heart disease in Russian population / A. Polonikov [et al.] // Gene. 2017. N 627. P. 451-459. DOI: 10.1016/j.gene.2017.07.004

30.A comprehensive contribution of genes for aryl hydrocarbon receptor signaling pathway to hypertension susceptibility / A.V. Polonikov [et al.] // Pharmacogenet Genomics. 2017. Vol. 27(2). P. 57-69. DOI: 10.1097/FPC.0000000000000261

31.A flexible computational framework for detecting, characterizing, and interpreting statistical patterns of epistasis in genetic studies of human disease susceptibility / J. Moore [et al.] // Journal of Theoretical Biology. 2006. Vol. 241(2). P. 252-261. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2005.11.036

32.Москаленко М.И. Вклад генетических полиморфизмов матричных металлопротеиназ в формирование предрасположенности к эссенциальной гипертензии: дис. ... канд. биол. наук. Белгород, 2017. 231с.

33.Mbmdr: an R package for exploring gene–gene interactions associated with binary or quantitative traits / M.L. Calle [et al.] // Bioinformatics. 2010. Vol. 26(17). P. 2198-2199. DOI: https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq352

34.Improving strategies for detecting genetic patterns of disease susceptibility in association studies / M.L. Calle [et al.] // Stat Med. 2008. Vol. 27(30). P. 6532-6546. DOI: https://doi.org/10.1002/sim.3431

35.Mahachie John JM, Van Lishout F, Van Steen K. Model-Based Multifactor Dimensionality Reduction to detect epistasis for quantitative traits in the presence of error-free and noisy data // Eur J Hum Genet. 2011. Vol. 19(6). P. 696-703. DOI: https://doi.org/10.1038/ejhg.2011.17

36.Lower-order effects adjustment in quantitative traits model-based multifactor dimensionality reduction / John JM Mahachie [et al.] // PLoS One. 2012. Vol. 7(1). P. e29594. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029594

37.A generalized combinatorial approach for detecting gene by gene and gene by environment interactions with application to nicotine dependence / X.Y. Lou [et al.] // American Journal of Human Genetics. 2007. Vol. 80(6). P. 1125-1137. DOI: https://doi.org/10.1086/518312

38.Practical and theoretical considerations in study design for detecting gene–gene interactions using MDR and GMDR approaches / G.B. Chen [et al.] // PLoS One. 2011. N 6. P. e16981. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016981

39.Миланова С.Н. Анализ ассоциаций полиморфных маркеров генов-кандидатов и генно-средовых взаимодействий с формированием гипертонической болезни и ее осложнений: дис. ... канд. мед. наук. Белгород, 2018.

40.Association of genetic polymorphisms with age at menarche in Russian women / I. Ponomarenko [et al.] // Gene. 2019. N 686. P. 228-236. DOI: https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.11.042

References

1. Dvornyk V, Haq W. Genetics of age at menarche: a systematic review. *Human Reproduction Update*. 2012;18(2):198-210. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmr050>
2. Pyun JA, Kim S, Cho NH, et al. Genome-wide association studies and epistasis analyses of candidate genes related to age at menarche and age at natural menopause in a Korean population. *Menopause*. 2014;21:522-9. DOI: 10.1097/GME.0b013e3182a433f7
3. Sirotina S, Ponomarenko I, Kharchenko A, et al. A Novel Polymorphism in the Promoter of the *CYP4A11* Gene Is Associated with Susceptibility to Coronary Artery Disease. *Dis Markers*. 2018;2018:5812802. DOI:10.1155/2018/5812802
4. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet*. 2007;81:559-75. DOI: 10.1086/519795
5. Favorov AV, Andreewski TV, Sudomoina MA, et al. A Markov Chain Monte Carlo Technique for Identification of Combinations of Allelic Variants Underlying Complex Diseases in Humans. *Genetics*. 2005;171(4):2113-2121. DOI: 1534/genetics.105.048090
6. Lvovs D, Favorova OO, Favorov AV. A Polygenic Approach to the Study of Polygenic Diseases. *Acta naturae*. 2012;4(3(14)):59-71.
7. Gola D, Mahachie John JM, van Steen K, et al. A roadmap to multifactor dimensionality reduction methods. *Brief Bioinform*. 2015;17(2):293-308. DOI: <https://doi.org/10.1093/bib/bbv038>
8. Ritchie MD, Hahn LW, Roodi N, et al. Multifactor-dimensionality reduction reveals high-order interactions among estrogen-metabolism genes in sporadic breast cancer. *Am J Hum Genet*. 2001;69(1):138-47. DOI: <https://doi.org/10.1086/321276>
9. Tanikawa C, Okada Y, Takahashi A, et al. Genome Wide Association Study of Age at Menarche in the Japanese Population. *PLoS ONE*. 2013;8(5):e63821. DOI:10.1371/journal.pone.0063821
10. Mitra I, Lavillaureix A, Yeh E, et al. Reverse Pathway Genetic Approach Identifies Epistasis in Autism Spectrum Disorders. *PLoS Genet*. 2017;13(1):e1006516. DOI:10.1371/journal.pgen.1006516
11. Nasibullin TR, Yagafarova LF, Yagafarov IR, et al. Combinations of Polymorphic Markers of Chemokine Genes, Their Receptors and Acute Phase Protein Genes As Potential Predictors of Coronary Heart Diseases. *Acta Naturae*. 2016;8(1):111-6.
12. Barsova RM, Lvovs D, Titov BV, et al. Variants of the Coagulation and Inflammation Genes Are Replicably Associated with Myocardial Infarction and Epistatically Interact in Russians. *PLoS One*. 2015;10(12):e0144190. DOI:10.1371/journal.pone.0144190
13. Kiselev I, Bashinskaya V, Kulakova O, et al. Variants of MicroRNA Genes: Gender-Specific Associations with Multiple Sclerosis Risk and Severity. *Int J Mol Sci*. 2015;16(8):20067-81. DOI:10.3390/ijms160820067
14. Tikunova E, Ovtcharova V, Reshetnikov E, et al. Genes of tumor necrosis factors and their receptors and the primary open angle glaucoma in the population of Central Russia. *Int J Ophthalmol*. 2017;10(10):1490-1494. DOI:10.18240/ijo.2017.10.02
15. Lee S, Kim Y, Kwon MS, et al. A Comparative Study on Multifactor Dimensionality Reduction Methods for Detecting Gene-Gene Interactions with the Survival Phenotype. *Biomed Res Int*. 2015;2015:671859. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/671859>
16. Rai R, Kim JJ, Misra S, et al. A Multiple Interaction Analysis Reveals ADRB3 as a Potential Candidate for Gallbladder Cancer Predisposition via a Complex Interaction with Other Candidate Gene Variations. *Int J Mol Sci*. 2015;16(12):28038-49. DOI:10.3390/ijms161226077
17. Su MW, Tung KY, Liang PH, et al. Gene-gene and gene-environmental interactions of childhood asthma: a multifactor dimension reduction approach. *PLoS One*. 2012;7(2):e30694. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030694>
18. Braem MG, Voorhuis M, van der Schouw YT, et al. Interactions between genetic variants in AMH and AMHR2 may modify age at natural menopause. *PLoS One*. 2013;8(3):e59819. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059819>
19. Liu M, Shi X, Yang F, et al. The Cumulative Effect of Gene-Gene and Gene-Environment Interactions on the Risk of Prostate Cancer in Chinese Men. *Int J Environ Res Public Health*. 2016;13(2):162. DOI:10.3390/ijerph13020162
20. An L, Lin Y, Yang T, et al. Exploring the interaction among EPHX1, GSTP1, SERPINE2, and TGFB1 contributing to the quantitative traits of chronic obstructive pulmonary disease in Chinese Han population. *Hum Genomics*. 2016;10(1):13. DOI:10.1186/s40246-016-0076-0
21. Wang Q, Liu L, Li H, et al. Effects of High-Order Interactions among IGFBP-3 Genetic

Polymorphisms, Body Mass Index and Soy Isoflavone Intake on Breast Cancer Susceptibility. *PLoS One*. 2016;11(9):e0162970. DOI:10.1371/journal.pone.0162970

22.Fontes FL, de Araújo LF, Coutinho LG, et al. Genetic polymorphisms associated with the inflammatory response in bacterial meningitis. *BMC Med Genet*. 2015;16:70. DOI:10.1186/s12881-015-0218-6

23.Smid A, Karas-Kuzelicki N, Jazbec J, et al. PACSIN2 polymorphism is associated with thiopurine-induced hematological toxicity in children with acute lymphoblastic leukaemia undergoing maintenance therapy. *Sci Rep*. 2016;6:30244. DOI:10.1038/srep30244

24.Yi X, Lin J, Luo H, et al. Interactions among variants in *TXA2R*, *P2Y12* and *GPIIIa* are associated with carotid plaque vulnerability in Chinese population. *Oncotarget*. 2018;9(25):17597-17607. DOI:10.18632/oncotarget.24801

25.Geng YH, Wang ZF, Jia YM, et al. Genetic polymorphisms in *CDH1* are associated with endometrial carcinoma susceptibility among Chinese Han women. *Oncol Lett*. 2018;16(5):6868-6878. DOI: <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9469>

26.Yu P, Jiao J, Chen G, et al. Effect of GRM7 polymorphisms on the development of noise-induced hearing loss in Chinese Han workers: a nested case-control study. *BMC Med Genet*. 2018;19(1):4. DOI:10.1186/s12881-017-0515-3

27.Zhang J, Yang J, Han D, et al. Dvl3 polymorphism interacts with life events and pro-inflammatory cytokines to influence major depressive disorder susceptibility. *Sci Rep*. 2018;8(1):14181. DOI:10.1038/s41598-018-31530-2

28.Bi XJ, Lv XM, Ai XY, et al. Childhood trauma interacted with BDNF Val66Met influence schizophrenic symptoms. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(13):e0160. DOI: 10.1097/MD.00000000000010160

29.Polonikov A, Kharchenko A, Bykanova M, et al. Polymorphisms of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 and risk of coronary heart disease in Russian population. *Gene*. 2017;627:451-459. DOI: 10.1016/j.gene.2017.07.004

30.Polonikov AV, Bushueva OY, Bulgakova IV, et al. A comprehensive contribution of genes for aryl hydrocarbon receptor signaling pathway to hypertension susceptibility. *Pharmacogenet Genomics*. 2017;27(2):57-69. DOI: 10.1097/FPC.0000000000000261

31.Moore J, Gilberta J, Tsai C, et al. A flexible computational framework for detecting, characterizing, and interpreting statistical patterns of epi-

stasis in genetic studies of human disease susceptibility. *Journal of Theoretical Biology*. 2006;241(2):252-261. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2005.11.036>

32. Moskalenko MI. [Contribution of genetic polymorphisms of matrix metalloproteinases to the formation of susceptibility to essential hypertension / thesis for the degree of candidate of biological sciences] [dissertation]. Belgorod; 2017.

33.Calle ML, Urrea V, Malats N, et al. Mbmdr: an R package for exploring gene-gene interactions associated with binary or quantitative traits. *Bioinformatics*. 2010;26(17):2198-2199. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq352>

34.Calle ML, Urrea V, Vellalta G, et al. Improving strategies for detecting genetic patterns of disease susceptibility in association studies. *Stat Med*. 2008;27(30):6532-6546. DOI: <https://doi.org/10.1002/sim.3431>

35.Mahachie John JM, Van Lishout F, Van Steen K. Model-Based Multifactor Dimensionality Reduction to detect epistasis for quantitative traits in the presence of error-free and noisy data. *Eur J Hum Genet*. 2011;19(6):696-703. DOI: <https://doi.org/10.1038/ejhg.2011.17>

36.Mahachie John JM, Cattaert T, Lishout FV, et al. Lower-order effects adjustment in quantitative traits model-based multifactor dimensionality reduction. *PLoS One*. 2012;7(1):e29594. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029594>

37.Lou XY, Chen GB, Yan L, et al. A generalized combinatorial approach for detecting gene by gene and gene by environment interactions with application to nicotine dependence. *American Journal of Human Genetics*. 2007;80(6):1125-1137. DOI: <https://doi.org/10.1086/518312>

38.Chen GB, Xu Y, Xu HM, et al. Practical and theoretical considerations in study design for detecting gene-gene interactions using MDR and GMDR approaches. *PLoS One*. 2011. N 6. P. e16981. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016981>

39. Milanova S.N. [Analysis of the associations of polymorphic markers of candidate genes and gene-environmental interactions with the development of hypertension and its complications] [dissertation]. Belgorod; 2018.

40.Ponomarenko I, Reshetnikov E, Altukhova O, et al. Association of genetic polymorphisms with the age at menarche in Russian women. *Gene*. 2019;686:228-236. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.11.042>

Информация об авторах

Ирина Васильевна Пономаренко, кандидат медицинских наук, доцент кафедры медико-биологических дисциплин, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», E-mail: ponomarenko_i@bsu.edu.ru, ORCID: 0000-0002-5652-0166.

Information about the author

Irina V. Ponomarenko, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of

Biomedical Disciplines, Belgorod State National Research University, E-mail: ponomarenko_i@bsu.edu.ru, ORCID: 0000-0002-5652-0166

Статья поступила в редакцию 16 августа 2018 г.
Receipt date 2018 August 16.

Статья принята к публикации 17 декабря 2018 г.

Accepted for publication 2018 December 17.



DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-2

Niklas Padutsch,
Thomas LiehrFirst report on a 20qh+ heteromorphism characterized by molecular
cytogenetics as amplification of D20Z1 sequencesJena University Hospital, Friedrich Schiller University, Institute of Human Genetics,
Friedrich-Schiller-Universität Jena, Jena, 07737, Germany

Corresponding author: Thomas Liehr (Thomas.Liehr@med.uni-jena.de)

Abstract

Background: Chromosomal heteromorphisms (CHMs) in human are still understudied. This is partially due to the fact that heterochromatic regions are not well documented in human genome browsers, even though data would be available. Another peculiarity associated with CHMs is that they are routinely seen in cytogenetic analyses, however, considered as being without any clinical meaning. Nonetheless, CHMs are more frequently observed in infertility patients, suggesting very well a potential impact for human genome function. **Aim of the study:** Since literature is still lacking the exact characterization or complete documentation of numerous CHMs, we aimed to characterize CHMs on chromosome 20 and to characterize whether these result from an amplification of D20Z1 or D20Z2 or both. **Materials and methods:** An infertile adult and a fetus have been studied by fluorescence in situ hybridization (FISH) with D20Z2 (specific for 20p11.1) and D20Z1 (specific for 20q11.1) probes. **Results:** Here we prove for the first time that the two different types of CHMs in chromosome 20 are indeed caused by amplification of two different stretches of the alphoid DNA: 20ph+ variants are normally due to enlarged D20Z2-stretches while 20qh+ variants are caused by enlargement of D20Z1-stretches. **Conclusions:** We have characterized 20qh+ CHM by means of FISH for the first time showing it to result from amplification of D20Z1. This is another puzzle piece for exact characterization and complete documentation of CHMs in human.

Keywords: D20Z1; D20Z2; 20ph+; 20qh+; chromosomal heteromorphisms (CHMs); human

Acknowledgments: The clinical cases were provided by Dr. A. Ovens-Reader Munich, Germany and Dr. I. Bartels, Germany.

Information for citation: Padutsch N, Liehr T. First report on a 20qh+ heteromorphism characterized by molecular cytogenetics as amplification of D20Z1 sequences. Research Results in Biomedicine. 2019;5(1):22-24. DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-2

Introduction. As chromosomal heteromorphisms (CHMs) in human are not well studied or documented, we have recently collected all available data in CHMs in a book [1] and on a webpage [2]. Since the publication of the book in 2014 [1], within only four years alone, in our lab >20 new CHMs were detected and included in the mentioned webpage [2]. This shows that CHMs are clearly understudied, as most of them are only detected in band-

ing cytogenetics, but not further followed up by molecular cytogenetics.

As highlighted in [1], DNA-stretches known to be localized as repetitive elements in specific heterochromatic regions of the human genome are still not included in the genome browsers. Data would be available on sequence and average size of these repetitive elements cover. For example, for the alphoid DNA stretch called D20Z1 it is known to be located in cytoband 20q11.1 and to cover about

1,020 kb there [3]. The 171bp repeats constituting D20Z1 is localized in cytoband 20p11.1 and covers normally about 3,900 kb [4]. These data are not considered in genome browsers – e.g. GRCh37 – cytobands 20p11.1 to 20q11.1 are given as 3,800 kb in size. Also, a genome browser search for ‘D20Z1’ or ‘D20Z2’ will not reveal any hit [1].

Here we report the first case with a proven amplification of D20Z1 sequences with banding cytogenetic result 46,XY,20qh+. Previously only cases with 20ph+ CHMs and amplification of D20Z2-stretches were reported, which seem to be more frequent, at least in middle European population.

The aim of the study. Here we aimed to characterize CHMs on chromosome 20 and to characterize they were due to amplification of D20Z1 or D20Z2 or both.

Material and methods. Chromosomes were studied from case 1, an adult studied due to infertility, and from case 2, a fetus studied here by fluorescence in situ hybridization (FISH) due to advanced maternal age.

Cell culture and chromosomes preparation from blood (case 1) or amniocytes (case 2) were done according to standard procedures [5]. Karyotyping was performed based on GTG-banding [6]. After detection of the variants in chromosome 20, molecular cytogenetic studies were undertaken using a commercially available D20Z2 probe specific for 20p11.1

(cep 20, Abbott/Vysis, Wiesbaden, Germany) and the D20Z1 probe specific for 20q11.1, kindly provided by Prof. Mariano Rocchi (Bari, Italy). D20Z2 was commercially available as labelled in SpectrumOrange and D20Z1 was labelled in SpectrumGreen as previously reported. FISH was done according to standard procedures [7], and results were documented using a Zeiss Axioplan microscope equipped with ISIS-software (MetaSystems, Altlussheim, Germany); 20 metaphases were acquired per case.

Results and discussion. As shown in Figure 1, the two probes D20Z2 and D20Z1 cover cytobands 20p11.1 and 20q11.1, and do not overlap. Also, confirming previous data, FISH-results show in both presented cases that D20Z2 in 20p11.1 normally covers a smaller stretch of DNA than D20Z1 in 20q11.1. In case 1, the GTG-banding result suggesting a 20ph+ variant was confirmed and the enlarged region of 20p11.1 is completely covered by D20Z2 specific green FISH signal (similar cases see [1-2]). In case 2, where a 20qh+ was suggested the result is vice versa, i.e. D20Z1 specific red FISH signal covers the enlarged cytoband 20q11.1. To the best of our knowledge this is the first time it could be demonstrated that 20qh+ variant is due to D20Z2 amplification. Also, it might be of interest that during last 15 years we saw in our lab six 20ph+, but only one 20qh+ variants.

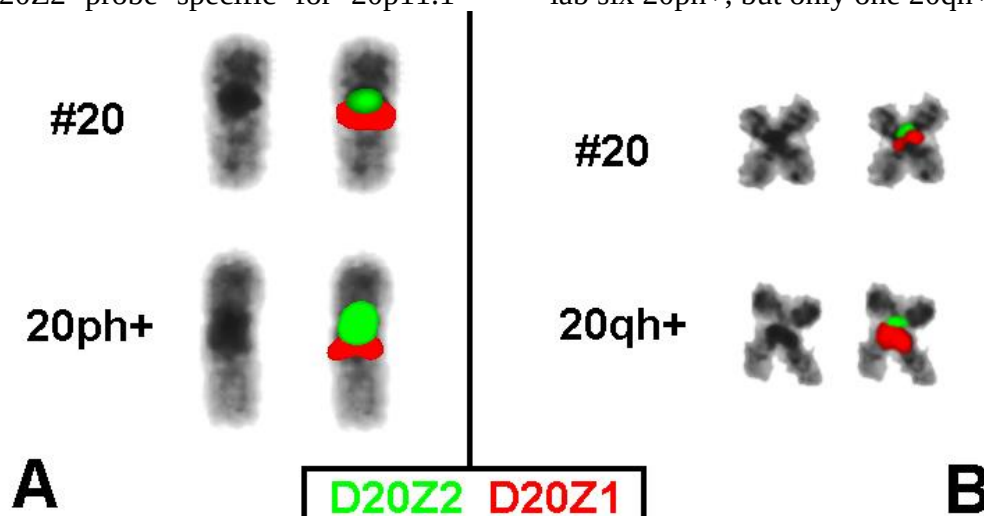


Fig. Results of fluorescence in situ hybridization (FISH) in two cases with centromeric heteromorphisms of chromosome 20 are depicted. In the first column, the inverted DAPI-banding of homologous chromosomes 20 is shown, and the second column shows the same chromosome-pair 20 with FISH-

signals of D20Z1 (red) and D20Z1 (green). In the upper line, normal chromosome 20 (#20) and in the lower line chromosome 20 with chromosomal heteromorphism are shown.

- A) In case 1, a 20ph+ was detected in banding cytogenetics; the enlarged band 20p11.1 was completely covered by green FISH of probe D20Z2.
- B) In case 2, a 20qh+ was detected in banding cytogenetics; the enlarged band 20q11.1 was completely covered by red FISH of probe D20Z1.

While the parental origin of the 20qh+ variant could not be sorted out, it is interesting that the 20ph+ variant was seen in a case of unexplained infertility. According to the literature, CHMs are in general more frequently observed in patients with a diagnoses of infertility [8]. A possible explanation for partially unclear data if CHMs are influencing human fertility or not may be, that yet no studies were undertaken to check for a possible 'two-hit-model' effect of CHMs as seen for euchromatic CNVs [9-10]. It is true that the DNA-stretches constituting CHMs are gene-free, still, a rather disregarded fact is that the alphoid DNA is transcribed into RNA in early embryogenesis [1]. The role and effects thereof are still not studied in detail and far from being understood.

Conclusion. Here we have characterized the yet not molecular studied 20qh+ CHM by means of FISH and could show that it is due to amplification of D20Z1. This is another puzzle piece for exact characterization and complete documentation of CHMs being detectable in human population. Also, only by knowing all variants routinely seen in cytogenetic analyses, their clinical meaning may be uncovered in the future.

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

References

1. Liehr T. Benign & Pathological Chromosomal Imbalances, Microscopic and Submicroscopic Copy Number Variations (CNVs) in Genetics and Counseling. 1st ed. New York: Academic Press; 2014.
2. Liehr T. 201X. Cases with Heteromorphisms. [Internet]. [cited 2018 Dec 12]. Available from: <http://ssmc-tl.com/HMs.html>
3. Rocchi M, Baldini A, Archidiacono N, et al. Chromosome-specific subsets of human alphoid DNA identified by a chromosome 2-derived clone. *Genomics*. 1990;8(4):705-709. DOI: [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(90\)90258-V](https://doi.org/10.1016/0888-7543(90)90258-V)
4. Bassi C, Magnani I, Sacchi N, et al. Molecular structure and evolution of DNA

sequences located at the alpha satellite boundary of chromosome 20. *Gene*. 2000;256(1-2):43-50. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(00\)00354-1](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(00)00354-1)

5. Weise A, Liehr T. Pre- and postnatal diagnostics and research on peripheral blood, bone marrow chorion, amniocytes, and fibroblasts. In: *Fluorescence in situ Hybridization (FISH) – Application Guide*, T Liehr (ed.), 2nd e. Berlin: Springer; 2017:171-180.

6. Kosyakova N, Weise A, Mrasek K, et al. The hierarchically organized splitting of chromosomal bands for all human chromosomes. *Mol Cytogenet*. 2009;2:4. DOI: 10.1186/1755-8166-2-4

7. Liehr T, editor. *Fluorescence in situ Hybridization (FISH) – Application Guide*, 2nd ed. Berlin: Springer; 2017.

8. Kosyakova N, Grigorian A, Liehr T, et al. Heteromorphic variants of chromosome 9. *Mol Cytogenet*. 2013;6(1):14. DOI: 10.1186/1755-8166-6-14

9. Girirajan S, Rosenfeld JA, Cooper GM, et al. A recurrent 16p12.1 microdeletion supports a two-hit model for severe developmental delay. *Nat Genet*. 2010;42(3):203-209. DOI: 10.1038/ng.534

10. Liehr T. Benign and pathological gain or loss of genetic material- about microscopic and submicroscopic copy number variations (CNVs) in human genetics. *Tsitologiya*. 2016;58(6):476-477.

Information about the authors

Niklas Padutsch, BTA; Technician, Jena University Hospital, Friedrich Schiller University, Institute of Human Genetics, Jena, Germany, E-mail: Thomas.Liehr@med.uni-jena.de.

Thomas Liehr, PhD, PD, Head of Lab, Jena University Hospital, Friedrich Schiller University, Institute of Human Genetics, Jena, Germany, E-mail: Thomas.Liehr@med.uni-jena.de, ORCID: 0000-0003-1672-3054.

Статья поступила в редакцию 15 декабря 2018 г.
Receipt date 2018 December 15.

Статья принята к публикации 9 января 2019 г.
Accepted for publication 2019 January 9.



УДК575:616-053.2

DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-3

С.Г. Ворсанова^{1,2}, О.С. Куринная^{1,2},
Ю.Б. Юров^{1,2}, М.А. Зеленова^{1,2},
Е.С. Кешишян¹, В.Ю. Воинова^{1,2},
И.А. Демидова^{1,2}, И.Ю. Юров^{1,2,3}

Молекулярно-цитогенетическое исследование
детей, родившихся недоношенными:
выявление геномных аномалий

¹ Обособленное структурное подразделение «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»,
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научный центр психического здоровья»,
Каширское ш., д. 34, г. Москва, 115522, Российская Федерация

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»,

ул. Барикадная, д. 2/1, стр.1, г. Москва, 125993, Российская Федерация

Автор для переписки: С.Г. Ворсанова (svorsanova@mail.ru)

Аннотация

Актуальность: С интенсивным внедрением молекулярно-цитогенетических технологий в медицинскую практику стало возможным выявлять геномные перестройки с недоступным ранее разрешением (молекулярное кариотипирование), в том числе у детей, рождённых недоношенными с малой массой тела. Тем не менее, подобные исследования в этих группах детей практически не проводятся, не показана связь их рождения с различными нарушениями развития и геномными аномалиями. **Цель исследования:** Анализ молекулярно-цитогенетических исследований геномных вариаций в группе детей, родившихся в сроке до 37 недель беременности с малой массой тела и различными нарушениями развития. **Материалы и методы:** Проведены цитогенетические и молекулярно-цитогенетические исследования вариаций генома в группе, состоящей из 52 детей, родившихся в сроке от 26 до 37 недель с небольшой массой тела, микроаномалиями (МАР) и пороками развития (ВПР). Оценка результатов проводилась с помощью ранее разработанной биоинформатической технологии, необходимой для корректной интерпретации фенотипических последствий геномных вариаций. **Результаты:** У детей, родившихся недоношенными с ВПР и МАР, а в дальнейшем с задержкой психомоторного развития, в 96,15% случаев выявлены различные нарушения генома, что позволяло предположить роль этих нарушений в клинических проявлениях и возможную их значимость в недоношенности. Обнаружены численные и структурные аномалии хромосом в 11,5% случаев. Мозаичные случаи нарушения генома, которые встречались совместно с регулярными, выявлены в 25%. Делеции и дупликации генома встречались практически в одинаковом числе. По хромосоме X выявлены аномалии в большем числе (30,8%) случаев. Геномные перестройки, включая сочетанные, обнаружены у 19 из 52 (36,5%) пациентов с врожденными пороками сердца, у 7 детей (13,5%) – с расстройствами аутистического спектра, у 8 детей (15,4%) – с эпилепсией (судороги/эпиактивность),

у 10 (19,2%) – с нефрологическими нарушениями. Практически все пациенты при дальнейшем возрастном исследовании были с нарушениями психомоторного развития. **Заключение:** При биоинформатическом анализе с использованием приоритизации генов, у всех исследованных детей было выявлено большое число генов (около 1500), связанных с клинической картиной; среди них часто встречался ген *FMR1* [OMIM:309550]. Вариабельность полученных нами клинических и молекулярных результатов не позволяет провести корректные сопоставления патологической значимости геномных нарушений в плане рождения недоношенных и маловесных детей. Полученные нами данные и проведённый анализ может указывать на целесообразность и продолжение исследований, направленных на решение проблем недоношенности.

Ключевые слова: геномные технологии; недоношенность; молекулярное карิโอ-типирование; нарушение психомоторного развития

Благодарности: Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и CITMA – *Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente de la República de Cuba* – в рамках научного проекта № 18-515-34005.

Информация для цитирования: Молекулярно-цитогенетическое исследование детей, родившихся недоношенными: выявление геномных аномалий / С.Г. Ворсанова [и др.] // Научные результаты биомедицинских исследований. 2019. Т. 5, № 1. С. 25-51 [Vorsanova SG, Kurinnaia OS, Yurov YB, et al. Molecular cytogenetic study of preterm infants: genomic anomalies detection. Research Results in Biomedicine. 2019;5(1):25-51 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-3

Svetlana G. Vorsanova^{1,2},
Oksana S. Kurinnaia^{1,2},
Yuri B. Yurov^{1,2},
Maria A. Zelenova^{1,2},
Elena S. Keshishian¹,
Victoria Y. Voinova^{1,2},
Irina A. Demidova^{1,2},
Ivan Y. Iourov^{1,2,3}

Molecular cytogenetic study of preterm infants: genomic anomalies detection

¹ Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics,
Pirogov Russian National Research Medical University,
1 Ostrovityanova St., Moscow, 117997, Russia

² Mental Health Research Center,
34 Kashirskoe Shosse, Moscow, 115522, Russia

³ Russian Medical Academy of Continuous Postgraduate Education,
bld. 1, 2/1 Barikadnaya St., Moscow, 125993, Russia

Corresponding author: Svetlana G. Vorsanova (svorsanova@mail.ru)

Abstract

Background: The intensive implementation of molecular cytogenetic technologies into medical practice has made it possible to detect genomic rearrangements with previously unavailable resolution (molecular karyotyping), including premature and low weight babies. However, such studies in these groups of children have never been carried out, and the relationship of their birth with various developmental disorders and genomic anomalies is yet to be studied. **The aim of the study:** The research objective is to study

a group of children with low birth weight and various developmental disorders, born before 37 weeks of gestation, **Materials and methods:** Cytogenetic and molecular cytogenetic studies of genome variations in the group of 52 children born between 26-37 weeks of gestation with small body weight, facial dysmorphisms and congenital malformations were performed. For correct interpretation of the phenotypic consequences of genomic variations the results were analyzed with the use of the previously described bioinformatic technology. **Results:** 96.15% of premature babies with congenital malformations and facial dysmorphisms, and later demonstrating a psychomotor development delay, were diagnosed with various genomic disorders, therefore suggesting a role of these disorders in clinical manifestations and their possible significance for premature birth. The cytogenetic study revealed numerical and structural chromosome abnormalities in 11.5% of cases. Mosaic genomic abnormalities, co-occurring with regular rearrangements, were found in 25%. Genomic deletions and duplications were found in almost the same proportion. The X chromosome exhibited the largest number of rearrangements (30.8%) among other chromosomes. Genomic variations, including combined rearrangements, were found in 19 of 52 (36.5%) patients with congenital heart defects, in 7 children (13.5%) with autism spectrum disorders; in 8 children (15.4%) with epilepsy (convulsions/seizure patterns), in 10 individuals (19.2%) with nephrologic disorders. Almost all patients demonstrated psychomotor development disorders further in life. **Conclusion:** In all children under the study, the bioinformatic analysis, based on the use of gene prioritization, has revealed a large number of genes (about 1500) associated with the clinical picture, with *FMR1* gene [OMIM: 309550] as the most frequent. The variability of clinical and molecular results of this study does not yet allow us to make correct comparisons of the pathological significance of genomic disorders related to premature and low weight babies. Both the obtained data and analysis can demonstrate the viability and long-term benefits of the studies aimed at solving the problems of prematurity.

Keywords: genomic technologies; prematurity; molecular karyotyping; psychomotor development delay

Acknowledgements: The study was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research and CITMA – *Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente de la República de Cuba* – in the framework of the research project No. 18-515-34005.

Введение. С интенсивным развитием молекулярной цитогенетики в течение последних десятилетий связаны технологии, которые способны обнаруживать геномные перестройки с недоступным ранее разрешением [1, 2, 3, 4]. В результате их применения был обнаружен широкий спектр ранее неизвестных микроделеционных и микродупликационных синдромов [5, 6, 7, 8]. Кроме того, были обнаружены многочисленные уникальные геномные (субхромосомные) аномалии, дающие значимую информацию относительно их происхождения и фенотипических последствий [9, 10, 11, 12]. Известно, что отдельные генные мутации могут стать причиной вариаций числа копий последовательностей ДНК (деле-

ции/дупликации, анеуплоидии, транслокации), т.е. геномной или хромосомной нестабильности (CIN), проявляющейся в виде структурных или численных изменений хромосом [13, 14, 15, 16]. Сочетание молекулярно-цитогенетических методов исследования клеток с биоинформатическим анализом дает возможность связать геномные изменения с конкретной клеточной патологией и фенотипическими проявлениями.

Известно также, что недоношенные дети составляют наиболее уязвимую группу в плане нарушений психомоторного и физического развития, причем степень нарушения, как правило, коррелирует с массой тела при рождении и гестационным возрастом [17, 18, 19, 20]. С появлением геномных

технологий, включающих полногеномное сканирование несбалансированных хромосомных микроаномалий с использованием молекулярного кариотипирования на ДНК-микроматрицах, стало возможным выявление клинически значимых аномалий генома у детей с нарушениями психомоторного, физического развития, МАР и ВПР [3, 21, 22, 23], включая недоношенных детей [24, 25, 26]. Это позволило бы установить корреляцию фенотип-генотип и осуществить прогнозирование дальнейшего развития ребенка, а также возможную коррекцию выявленных нарушений [25, 27]. Тем не менее, подобные исследования в группах недоношенных детей (до 37 недель беременности) практически не проводятся, не показана связь рождения недоношенных детей с различными аномалиями развития и геномными нарушениями.

Цель исследования. Анализ проведенных молекулярно-цитогенетических (геномных) исследований вариаций генома в группе из 52 детей, родившихся в сроке до 37-ми недель беременности и ниже с небольшой массой тела, микроаномалиями и пороками развития.

Материалы и методы исследования. Проведены цитогенетические и молекулярно-цитогенетические исследования вариаций генома в группе, состоящей из 52 детей с небольшой массой тела, микроаномалиями и пороками развития в сроке от 26 до 37 недель. Оценка результатов проводилась с помощью ранее разработанной биоинформатической технологии [5, 22, 27], необходимой для корректной интерпретации фенотипических последствий геномных вариаций в виде микроделетий/микродупликаций [5, 28, 29]. Алгоритм исследования включал в себя: молекулярно-цитогенетический анализ (arrayCGH); *in silico* оценку экспрессии

генов (эпигенетические базы данных), вовлеченных в геномную перестройку, и межбелковых взаимодействий (интерактомный анализ), а также метаболомный анализ с последующими выявлениями патогенетических процессов [12, 29, 30, 31].

Цитогенетическое исследование проводили на препаратах метафазных хромосом, полученных путем фиксации культивированных *in vitro* лимфоцитов периферической крови в соответствии со стандартной методикой. Анализ проводился с использованием дифференциального окрашивания хромосом по длине (G- и C-окрашивание) по общепринятым протоколам [12, 22] под световым микроскопом при увеличении $\times 1125$. Молекулярно-цитогенетическое исследование проводили методом молекулярного кариотипирования, согласно ранее описанному протоколу, при использовании SNP/олигонуклеотидной микроматрицы с разрешением не менее 1 тысячи пн (Affymetrix) [10]. Изучение транскриптомных, метаболомных и интерактомных данных проводили при использовании оригинальной биоинформатической технологии [30, 32]. Межбелковые взаимодействия оценивались с использованием ресурса Mentha (<http://mentha.uniroma2.it>).

Результаты и их обсуждение. Обсуждая полученные результаты, следует сказать, что соотношение полов в исследуемой группе было следующее: мальчики : девочки – 22 : 30 (0,73), средний возраст обращения пациентов – 2 года 2 мес. (от 7 мес. до 4,5 лет), средний срок беременности – 32,8 недель (от 26 до 37 недели), средний вес – 2143,5 г (от 890 г до 2680 г). Результаты геномных и клинических исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1

Клинические, цитогенетические и молекулярно-цитогенетические исследования пациентов, родившихся недоношенными с малой массой тела, различными микроаномалиями и врожденными пороками развития

Table 1

Clinical, cytogenetic and molecular cytogenetic studies in premature patients with low weight, various micro-anomalies and congenital malformations

№	Пол	Возраст обращения	Срок беременности (нед.)	Масса тела при рождении (г)	Клинические, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические исследования
1.	Мал.	2г 2 мес.	36	2400	Грубая задержка психомоторного и психоречевого развития, эпилепсия, аутизм, стереотипии, гипомимия и удлиненное лицо, расходящееся косоглазие, частичная атрофия зрительных нервов, оттопыренные ушные раковины, атония, гипоплазия мышц, воронкообразная грудная клетка, плоскостопие. 46,XY arr(1-22)×2,(XY)×1
2.	Дев.	2г 6 мес.	35	2380	Задержка психоречевого развития, атипичный аутизм, плоское лицо, малый размер стопы. 46,XX arrXq22.3(107,087,609-107,112,208)×3,Xq24(120,179,398-120,186,734)×3,Xq27.1(138,595,471-138,615,956)×3,4q13.2(70,343,033-70,439,056)×1,7p22.1(4,790,895-4,893,060)×1
3.	Дев.	2г 1 мес.	34	2230	Задержка психомоторного и выраженная задержка физического развития, микроцефалия, агенезия мозолистого тела, выступающие лобные бугры, эпикант, широкие переносы и кончик носа, крупные низко расположенные ушные раковины, выраженный кариес, воронкообразная грудная клетка, аномалия Денди-Уокера, камптодактилия I пальца левой руки, поперечная борозда, недоразвитие левой почки, открытое овальное окно, диффузные изменения паренхимы почек; неправильный рост пальцев, клинодактилия V пальцев стоп и укорочение II плюсневых костей, костный возраст на 12 мес. 46,XX,1qh-,9qh+,22pstk+ arrXp22.11(22,046,797-22,054,499)×3,Xq26.2(133,559,874-133,565,894)×3,Xq26.3(135,106,488-135,126,126)×3,1q44(249,148,849-249,224,684)×3,3p25.1(13,877,398-13,939,848)×3,21q22.3(48,018,511-48,097,372)×3
4.	Мал.	2г 1 мес.	35	2150	Выраженная задержка моторного, физического и психоречевого развития, гипоплазия мозолистого тела, киста прозрачной перегородки, частичная атрофия

№	Пол	Возраст обращения	Срок бере- менно- сти (нед.)	Масса тела при рожде- нии (г)	Клинические, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические исследования
					зрительных нервов, расходящееся косоглазие; удвоение левой почки, гипотрофия 2-й степени. 46,XY,1phqh,14ps+ arr6q14.1(81,054,761- 81,055,809)×3,15q11.2(25,421,593-25,430,243)×1
5.	Дев.	2г 3 мес.	31	1800	Задержка психомоторного и психоречевого развития, микроцефалия, нарушение целенаправленных движений рук, стереотипии, сходящееся альтернирующее косоглазие, гипотелоризм глазных щелей, эпикант, широкое переносье, гипоплазия крыльев носа, деформированные низко расположенные ушные раковины, брахидактилия, акромикрия. 46,XX arr1p13.1(116,228,033- 116,242,507)×1,22q11.22(22,311,348-22,579,775)×3
6.	Дев.	3г 6 мес.	34	2330	Выраженная задержка психоречевого развития, аутистические черты, высокое физическое развитие, гиперметропический астигматизм, эпикант, гипертелоризм, широкий кончик носа, пролапс митрального клапана, дисфункция трикуспидального клапана, частично открытое овальное окно без сброса, пупочная грыжа, плоско-вальгусные стопы, правосторонняя пиелозктазия, почечная недостаточность, семейная нефропатия. 46,XX arrXq12(67,637,833-67,656,423)×3,1q42.2(231,712,603- 231,816,172)×3,4q22.1(88,362,847- 88,408,755)×3,16q12.2(55,842,501- 55,848,056)×4,16q24.3(89,801,187-89,837,147)×1
7.	Мал.	2г 2 мес.	29	1290	Задержка психомоторного и психоречевого развития, гипоплазия мозолистого тела, микроцефалия, сдавленная с боков форма черепа, врожденные катаракта и атрофия дисков зрительных нервов, крупные ушные раковины, косолапость. 45,X[2]/46,XY[28] arrXp11.4(40,448,020- 40,454,166)×0,2q31.1(175,663,235- 175,666,711)×4,4p16.3(3,185,760- 3,191,467)×4,5p13.3p13.2(33,130,008-34,124,081)×3
8.	Дев.	1г 8 мес.	28	1220	Задержка внутриутробного, физического и психомоторного развития, мышечная гипотония, двусторонняя тугоухость I-II ст., выступающие теменные бугры, частичный птоз, эпикант, плоское переносье, маленький нос с выступающими вперед ноздрями, низко расположенные оттопыренные ушные раковины, вы-

№	Пол	Возраст обращения	Срок бере- менно- сти (нед.)	Масса тела при рожде- нии (г)	Клинические, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические исследования
					сокое небо, гипоплазия нижней челюсти, короткая шея, ретрогнатия, гипертелоризм сосков, пупочная грыжа, «сандалевидная» щель, сахарный диабет. 46,XX,del(2)(q37.2),1qh-,15cenh+ arrXq27.3(147,011,693- 147,016,383)x3,2q37.3(237,772,848-242,783,384)x1
9.	Мал.	2г 7 мес.	33	2480	Грубая задержка психомоторного развития, микроцефалия, частичная атрофия зрительных нервов, диспластичные ушные раковины, короткая шея, поперечная ладонная складка, брахицефалия, спастический тетрапарез, микрогенитализм, бочкообразная грудная клетка, эпилептическая активность. 46,XY arrXp11.23(47,499,796- 47,503,593)x0,6q25.3(160,162,305- 160,169,866)x1,17q21.31(44,061,855- 44,074,823)x1 arr7q32.1q32.2(128,846,468-129,935,875)x2hms
10.	Мал.	2г	34	2670	Задержка психоречевого развития, аутистические черты, микроцефалия, высокое небо, широкая «сандалевидная» щель, энофтальм. Отягощенная родословная – дед по линии отца страдал шизофренией. 46,XY arr10q11.23(51,780,174- 52,166,932)x3,17p13.3(1,397,572- 1,403,948)x1,22q12.3(36,734,549-36,739,006)x1
11.	Дев.	4г 6 мес.	27	1500	Задержка внутриутробного и психоречевого развития, микроцефалия, гипертелоризм и узкие глазные щели, отсутствие мочек ушей, короткий фильтр, поперечная борозда на ладонях, клинодактилия, дистрофия костей, синдактилия II-III пальцев стоп, врожденная ко-солапость, двусторонняя сенсоневральная тугоухость, аномалия нижней полой вены. У матери в анамнезе спонтанные аборт.
12.	Дев.	1г 11 мес.	32	2100	Задержка физического развития, микроцефалия, высокий лоб с выступающими буграми, миндалевидные глаза с загнутыми ресницами, широкий приплюснутый нос, узкие губы, рот скобкой вниз, высокое небо, короткие V пальцы кистей, диспластичные ушные раковины, дефект межпредсердной перегородки, порок грудного и крестцового отделов позвоночника, дисплазия тазобедренных суставов, миопатия, врожденный порок сердца. 46,XX,del(14)(q32.3)

№	Пол	Возраст обра- щения	Срок бере- менно- сти (нед.)	Масса тела при рожде- нии (г)	Клинические, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические исследования
					arr5q22.1(110,416,621- 110,456,263)×3,14q32.13q32.2(95,563,168- 100,095,249)×2~3, 14q32.2(99,153,952- 101,024,454)×3,14q32.2q32.33 (101,024,608- 107,285,437)×1
13.	Дев.	1г 2 мес.	29	1250	Задержка психомоторного развития, выраженная ги- потония, мелкие черты лица, уменьшенные размеры кистей и стоп. 46,XX arr7q22.1(100,968,362- 101,128,617)×3,15q11.2q13.1(22,770,421-28,560,803)×1
14.	Дев.	1г 3 мес.	27	960	Задержка психомоторного и физического развития (гипотрофия), микроцефалия, хронический обструк- тивный бронхит на фоне бронхолегочной дисплазии, выступающий лоб, гипертелоризм глазных щелей, широкий нос, тонкая верхняя губа, гипоплазия челю- стей, низко расположенные диспластичные ушные раковины, нистагм, длинные тонкие пальцы кистей, проксимальное расположение I пальцев стоп, II паль- цы стоп выше остальных. В родословной полидакти- лия. 46,XX arr4q34.2(176,521,041- 176,610,341)×3,6p21.1(43,531,209-43,535,273)×1
15.	Мал.	1г 2 мес.	27	890	Задержка психомоторного и физического развития, множественные микроаномалии развития, синдром «вялого» ребёнка. Признаки синдрома Сильвера- Рассела. Ребенок от кровнородственного брака. 46,XY,9phqh,9qh- arr3p26.3p26.1(2,788,170- 8,587,443)×2~3,3p26.1(4,311,166-7,256,278)×3 arr13q12.13q14.11(25,741,538-40,892,121)×2hms
16.	Мал.	3г 6 мес.	32	2620	Грубая задержка психомоторного и психоречевого развития, гипоплазия мозолистого тела и мозжечка, редкие волосы, участки алопеции на голове, макро- цефалия, короткие глазные щели, маленькая нижняя челюсть, гемангиомы на затылке, брадикардия, нефропатия, аплазия почки, крипторхизм, гигантизм, крупные стопы, эктодермальная дисплазия. 46,XY arr5q35.1q35.3(171,538,904- 180,719,789)×1~2,5q35.2q35.3(175,029,372- 177,324,736)×1, 11p11.2p11.12(47,854,017- 48,976,284)×3,17p13.1(10,123,635-

№	Пол	Возраст обращения	Срок бере- менно- сти (нед.)	Масса тела при рожде- нии (г)	Клинические, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические исследования
					10,433,519)×3,17p12(15,590,106-15,854,769)×3
17.	Дев.	2г 2 мес.	31	2450	Задержка психомоторного развития, микроцефалия, повышенная диффузная пигментация кожи, оттопыренные низко расположенные ушные раковины, частичный птоз, эктопия зрачков, выраженная синдактилия II,III пальцев стоп, пятна «кофе с молоком», редкие волосы. 46,XX arr8q24.21(130,777,065-130,786,737)×1,9p23(9,891,088-10,036,298)×1,18p11.32p11.31(136,226- 5,012,991)×3
18.	Дев.	1г 11 мес.	30	2150	Задержка моторного и психоречевого развития, выступающий лоб, антимонголоидный разрез глазных щелей, эпикант, гипоплазия средней части лица, диспластичные низко расположенные ушные раковины, клинодактилия мизинцев, поперечные ладонные борозды, миопия, открытый артериальный проток, мышечная гипотония. 46,XX,9ph arr7q34(139,647,997-139,656,411)×4,14q11.2(20,512,609-22,724,098)×1~2,15q24.1q25.1 (74,511,004-79,727,232)×1
19.	Дев.	3г 6 мес.	33	2570	Задержка психомоторного и физического развития, мышечная гипотония, нейропатия (снижение болевой чувствительности), микроцефалия, готическое небо, антимонголоидный разрез глазных щелей, эпикант, низко расположенные ушные раковины, микрогнатия, микростомия, укорочение языка, короткий фильтр, клинодактилия кистей, искривление V пальцев кистей и II пальцев стоп, контрактура и укорочение проксимальных фаланг I пальцев кистей, кифосколиоз грудно-поясничного отдела позвоночника, «полые» стопы, инспираторный стридор. 46,XX,хромосомная нестабильность. arr3p25.3(10,849,786-10,863,227)×4,7q36.1(151,929,710-151,947,973)×1,10p11.21(35,060,420-35,517,234)×3,10q24.33(105,780,426-105,784,253)×4
20.	Дев.	2 г	29	1740	Грубая задержка физического, психомоторного и психоречевого развития, множественные переломы в анамнезе, нарушение терморегуляции, гидроцефалия, мягкие кости черепа, открытый родничок, задержка прорезывания зубов, треугольное лицо, голубые склеры, низко расположенные диспластичные ушные раковины, экзофтальм, высокий лоб, микрогнатия, короткая шея, узкая грудная клетка, брахицефалия,

№	Пол	Возраст обращения	Срок бере- менно- сти (нед.)	Масса тела при рожде- нии (г)	Клинические, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические исследования
					укороченные деформированные конечности, длинные пальцы кистей, поперечная складка на обеих ладонях, низко расположенное пупочное кольцо, гипоплазия сосков, кифоз в грудно-поясничном отделе позвоночника, короткие стопы, выраженная мышечная гипотония. 46,XX,9qh+,16qh+ arr16p13.11(16,248,154-16,258,276)×1,16p11.2q11.2(32,038,693-46,463,769)×4,16p11.2q12.1 (34,448,198-51,124,520)×2~3,19p13.3(2,505,552-2,515,283)×1 arr 7q31.33q32.3(126,738,243-130,995,300)×2hmr
21.	Мал.	4 г	33	2650	Задержка психоречевого развития, аутистические черты, физическое развитие ниже среднего, дефицит массы тела по отношению к росту, микроцефалия, телосложение правильное, высокий лоб, низко расположенные ушные раковины, аномальная дерматоглифика, синдактилия II,III пальцев кистей и II,II Iстоп. 46,XY arrYq11.223q11.23(25,623,519-28,279,302)×2,10q26.11(121,438,546-121,492,843)×1,16p12.2(21,576,802-21,736,000)×3
22.	Дев.	3г 6 мес.	31	1620	Задержка психомоторного и физического развития, низкое физическое развитие с дефицитом массы тела по отношению к росту, выступающая средняя часть лба, низко расположенные ушные раковины, плоская гемангиома в области носа и верхней губы, короткий нос с вогнутой переносицей и широким основанием, большой рот, конусовидные пальцы, диффузная мышечная гипотония, в том числе в аксиальной мускулатуре, нижний спастический парализ, расщелина неба. На МРТ расширение большой цистерны мозга. В родословной расщелина губы и неба, задержка речевого развития. 46,XX arr 6p12.3(51,448,546-51,481,671)×1,8q22.3(102,670,305-102,689,988)×1 arr1p34.1p32.3(45,884,003-53,880,369),1q21.2q21.3(147,369,424-150,727,394),6p22.1p21.32 (27,381,441-32,195,988),6q13q14.1(75,562,285-80,107,017),8q22.2q23.2(101,580,603-110,720,214),8q23.2q23.3(111,305,840-114,790,779),15q13.1q13.3(28,390,588-31,787,428), 17q21.31q21.33(42,632,846-

№	Пол	Возраст обра- щения	Срок бере- менно- сти (нед.)	Масса тела при рожде- нии (г)	Клинические, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические исследования
					47,843,826),17q21.33q22(49,752,580-53,364,300),17q24.2q24.3 (66,551,009-70,197,291)×2hmz
23.	Мал.	1г 4 мес.	34	2650	Легкая задержка моторного, психоречевого и физического развития, макроцефалия, короткая шея, короткие глазные щели, плоское переносье, дефект межжелудочковой перегородки, недостаточность клапанов сердца, камптодактилия, короткие плечевые, бедренные кости, пальцы стоп, «шалевидная» мошонка, паховая грыжа. 46,XY,1phqh arr13q32.2(98,993,326-98,997,948)×1
24.	Мал.	3г 6 мес.	35	2400	Легкая степень умственной отсталости, синдром дефицита внимания с гиперактивностью, эпилепсия, воронкообразная деформация грудной клетки, «вялая» осанка, оперированная водянка яичка, паховая грыжа, плоскостопие, удвоение чашечно-лоханочной системы справа, дисфункция синусового узла, неполная блокада правой ножки пучка Гиса, низко расположенные диспластичные ушные раковины, миндалевидные с антимонголоидным разрезом глазные щели, конусовидные тонкие пальцы. 46,XY arr1p21.3(94,958,377-95,000,738)×3,3q23(142,106,620-142,222,791)×1,11q13.1(63,643,710-63,964,054)×3,16q24.3(89,869,394-89,913,583)×1,19q12q13.11(29,373,242-34,341,260)×1~2
25.	Дев.	1г 4 мес.	37	2650	Выраженная задержка психомоторного развития, микроцефалия, асимметрия лица в лобной области в виде вдавления справа, короткие глазные щели, гиперметропия высокой степени, диспластичные ушные раковины, готическое нёбо, небольшая воронкообразная деформация грудной клетки, аномальная форма пальцев стоп, открытое овальное окно; на МРТ увеличение желудочков. 46,XX,1phqh,9phqh,13ps+ arrXq27.3(147,011,663-147,020,537)×3,5q21.3(108,267,627-108,285,385)×1,6p21.2(37,127,336-37,144,424)×1,20q12(39,710,037-39,773,208)×3 arr1q21.2q21.3(147,823,775-153,224,233),7p21.2p15.3(16,412,003-21,072,954)×2hmz
26.	Мал.	9 мес.	29	1280	Задержка физического и моторного развития, мышечная гипотония, высокий лоб, узкие глазные щели, ко-

№	Пол	Возраст обращения	Срок бере- менно- сти (нед.)	Масса тела при рожде- нии (г)	Клинические, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические исследования
					нусовидные пальцы, поперечная борозда на ладонях, деформированная грудная клетка. 46,XY,16qh- arrXp11.23(48,755,667-48,772,839)×2
27.	Дев.	2 г	30	1600	Выраженная задержка психомоторного развития, де- фект межжелудочковой перегородки, открытое овальное окно, гипотония, тугоухость 3-4 ст., плоское лицо, тонкие маленькие кисти и стопы, врожденный порок сердца. CHARGE синдром? Велокардиофаци- альный синдром? 46,XX arr5p13.1p12(42,486,051- 42,705,764)×3arr2p12(80,286,980-81,343,256)×2hmrz
28.	Дев.	3г 1 мес.	31	1900	Задержка речевого, психомоторного развития, микро- цефалия, косоглазие, синофриз, длинные густые рес- ницы, гипертрихоз, короткий нос, порок сердца, ин- фантильные спазмы. Признаки синдрома Корнелия де Ланге. 46,XX arrXq12(67,504,917-67,534,872)×3,Xq13.1(70,366,715- 70,404,302)×3,Xq13.1(70,431,029- 70,452,644)×3,Xq26.2q26.3(132,447,475- 133,773,744)×2~3,3q26.32(178,544,923- 178,573,093)×1,5q32(147,479,536- 147,503,318)×3,5q34(167,767,537- 167,834,840)×3,7p11.2(55,240,497- 55,262,974)×1,10q23.1(84,461,177- 84,526,450)×3,12p13.2(10,567,073- 10,598,802)×1,18q12.1 (32,281,402-32,291,683)×1
29.	Мал.	2г 8 мес.	36	2670	Выраженная задержка психомоторного и небольшая задержка психоречевого развития, аутизм, башенная форма черепа, гидроцефалия, увеличенные боковые желудочки мозга, гипотония мышц, удлинненное, плоское лицо, эпикант, пухлые губы, синдактилия II,III пальцев стоп, воронкообразная деформация грудной клетки, дополнительная поперечная трабеку- ла в левом желудочке сердца. Регресс психомоторно- го и речевого развития после очередной вакцинации в 18 мес. 46,XYqh+ arr9q32q33.1(117,557,500- 117,735,167)×3,17p13.3p13.2(525- 4,375,742)×1~2,17p13.3(525-1,323,904)×1
30.	Дев.	1г 2 мес.	26	1080	Выраженная задержка психического и физического развития, микроцефалия, агенезия мозолистого тела,

№	Пол	Возраст обра- щения	Срок бере- менно- сти (нед.)	Масса тела при рожде- нии (г)	Клинические, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические исследования
					низко расположенные ушные раковины, незаращение большого родничка, тугоухость, крупные мягкие кисти с клинодактилией мизинцев. Кровнородственный брак – родители двоюродные сибсы. 46,XX,del(3)(p2?5) arr 3p26.3(61,891-10,780,904)×1,10q26.11(121,433,306-121,467,370)×1 arr3q13.31q24(116,501,977-145,758,564),5q14.3q15(88,421,580-93,737,976),5q31.3q32(142,714,641-148,699,940),10q26.11q26.3(119,435,869-135,426,536),11q22.3q23.2(110,193,711-114,043,482)×2hmz
31.	Мал.	3г 2 мес.	36	2650	Задержка психоречевого и моторного развития, две макушки, выступающие лобные бугры, сходящееся косоглазие, гепатомегалия, микрогнатия. У матери расщелина неба и «заячья» губа. 46,XY,del(2)(p25.1)[2]/46,XY[20] arrXq22.1(99,651,979-99,667,610)×2,Xq28(147,574,240-147,584,984)×2,Yp11.31(2,650,140-2,662,664)×2,Yp11.31(2,780,527-2,829,388)×2,1p34.3(35,250,823-35,255,575)×4,1q21.3(153,307,850-153,362,883)×3,2p16.1(61,268,159-61,288,350)×1,9p21.2(27,209,491-27,217,169)×1,12p13.31(7,162,938-7,184,794)×3,12q24.31(124,207,567-124,213,315)×1,16q24.3(89,986,116-90,010,610)×1,20q13.13(49,174,707-49,185,043)×1
32.	Дев.	2г 8 мес.	28	1440	Задержка психоречевого и физического развития, мышечная гипотония, гидроцефалия, эпилепсия, выступающие лобные бугры и затылок, низко расположенные ушные раковины с приросшими мочками и сглаженным рисунком, маленькие нос с вздёрнутыми ноздрями и рот, конусовидные пальцы, «сандалевидная» щель. 46,XX arr5q34(161,519,373-161,522,353)×4,8q23.1(109,497,949-109,534,631)×3,18p11.32(2,275,728-2,702,747)×3
33.	Мал.	4г 6 мес.	36	2640	Задержка психоречевого развития, атипичный аутизм, макроцефалия, треугольная форма лица, запавшее переносье, оттопыренные деформированные ушные раковины, высокое небо, гипертелоризм сосков, доброкачественная гипербилирубинемия, дисфункция билиарного тракта, дисфункция хорд митрального кла-

№	Пол	Возраст обращения	Срок беременности (нед.)	Масса тела при рождении (г)	Клинические, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические исследования
					пана. 46,XY,1qh+,9phqh,9phqh arrYq11.23(27,014,284- 27,431,088)×0,7q11.21(64,638,143- 65,094,968)×3,10q23.31(91,202,675- 91,212,984)×1,22q13.33(51,092,391-51,121,362)×3
34.	Мал.	1г 6 мес.	37	2640	Задержка психомоторного развития, микроцефалия, брахицефалия, незавершенный поворот кишечника, уменьшение размеров почек, плоское лицо, крупные ушные раковины, короткая шея, мелкие черты лица, маленькие размеры гениталий; на МРТ расширение ликворных пространств. В анамнезе спонтанные аборт у матери. 46,XY,хромосомная нестабильность. arr2p16.2(54,127,194-54,133,543)×1,7p13(45,109,040- 45,115,787)×1,9q31.2(108,300,185- 108,327,484)×3,11p15.2(14,524,812- 14,542,829)×1,11q22.2(102,189,698-102,237,462)×1
35.	Дев.	1г 6 мес.	28	1250	Задержка внутриутробного и грубая задержка психомоторного развития, симптоматическая эпилепсия, задержка физического развития, микроцефалия, дефект межжелудочковой перегородки, выраженное отставание костного возраста (на 3мес), тонкие ноздри, глазные щели OD<OS, низкий рост волос на лбу, короткая шея, отеочность кистей стоп, «пауковидные» пальцы, гипоплазия IV пальцев стоп. 46,XX arr17p13.2p12(4,105,058- 11,737,149)×2~3,17p13.2p13.1(6,289,567- 7,158,485)×4,17p13.1(7,172,807- 7,637,091)×3arr17p13.3p13.2(18,900-6,295,959)×2hmr
36.	Дев.	1г 9 мес.	32	2650	Задержка психомоторного и физического развития, тугоухость, мышечная гипотония, выступающий лоб, плоский профиль лица, эпикант, плоское переносье, выступающие вперед ноздри, сглаженный фильтр, маленький рот, гипоплазия верхней и нижней челюстей, низко расположенные диспластичные оттопыренные ушные раковины со сглаженным рисунком, поперечная складка на ладонях, брахидактилия, частичная синдактилия II-IV пальцев стоп, IV палец левой стопы расположен под остальными, проксимальное расположение V пальцев стоп, кифоз грудного отдела. 46,XX,13pstk+,21pstk+ arr1p36.33p36.22(849,466-9,722,348)×1

№	Пол	Возраст обращения	Срок беременности (нед.)	Масса тела при рождении (г)	Клинические, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические исследования
37.	Мал.	2г 5 мес.	37	2670	Задержка психомоторного развития, органическое поражение ЦНС, расходящееся косоглазие, порок развития пальцев кистей (отсутствие II фаланги) и пальцев стоп, правосторонний крипторхизм, гипоплазия мозолистого тела с агенезией валика, ретроцереbellарная киста, L-образная почка, пузырно-мочеточниковый рефлюкс слева, вторичный пиелонефрит, билиарная дисфункция на фоне аномальной формы желчного пузыря. 46,XY arr16p13.11(16,319,646-16,544,018)×3
38.	Дев.	1г 3 мес.	36	1650	Задержка внутриутробного, психомоторного развития, широкое переносье, эпикант, деформированные ушные раковины, редкие зубы, добавочные клиновидные позвонки в грудном отделе позвоночника, врожденный порок сердца, гипотония мышц конечностей. 46,XX,1phqh arr13q32.3q34(101,495,219-115,107,733)×1
39.	Дев.	12 мес.	37	2600	Задержка внутриутробного, психомоторного и психоречевого развития, мышечная гипотония, стереотипии, долихоцефалия, аномальная форма губ (скобкой), эпикант, короткие глазные щели, дефект межжелудочковой перегородки, астигматизм, нарушение глотания. 46,XX arr1p32.2(57,313,820-57,325,377)×1,3q27.2q29(185,485,309-197,851,986)×3,15q26.3(99,076,919-102,399,548)×1
40.	Мал.	1г 8 мес.	35	2670	Задержка психомоторного и психического развития, микроцефалия, плоский затылок, круглое плоское лицо, крупные мясистые оттопыренные ушные раковины, широкое переносье, короткая шея, «мыс вдовы», голову держит с 1г, сидит с 14мес, открытое овальное окно. 46,XY,9qh+ arr4q22.3q24(97,831,184-104,944,698),7q21.2q21.3(92,533,154-93,592,846)×2hmq
41.	Дев.	1г 9 мес.	32	1450	Задержка внутриутробного и психоречевого развития, микроцефалия, эпикант, полные щеки и губы, врожденный порок сердца (открытое овальное окно, аневризма межпредсердной перегородки). 46,XX arr10q24.2(100,478,904-

№	Пол	Возраст обра- щения	Срок бере- менно- сти (нед.)	Масса тела при рожде- нии (г)	Клинические, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические исследования
42.	Дев.	7 мес.	37	2360	100,488,874)×1,17p12p11.2(15,754,173-20,552,548)×1 Задержка внутриутробного и физического развития, запавшее переносье, рот «карпа», эпикант, низко расположенные ушные раковины, короткая шея, поликистоз легких. 46,XX,add(10)(q26) arrXq13.1q13.3(69,700,718-75,200,577)×2~3,6q16.3(100,900,207-100,910,572)×4,7q33(133,584,270-133,632,427)×3,10q26.13q26.3(125,137,895-135,427,143)×3
43.	Дев.	4г 6 мес.	36	2650	Задержка психоречевого и моторного развития, низко расположенные ушные раковины, большой язык, открытый рот, конусовидные пальцы, небольшие кисти и стопы, брахицефалия; гепатомегалия, утолщение паренхимы почек, киста в правой почке; на МРТ смешанная гидроцефалия, истончение мозолистого тела, утолщение межжелудочковой перегородки. С 9мес. судороги и регресс развития: перестала сидеть, стоять, держать предметы. 46,XX arrXq27.3(147,014,625-147,020,537)×3,17p11.2(19,189,123-19,318,214)×3 arr6q25.3q26(160,271,391-161,334,562)×2hmrz
44.	Дев.	9 мес.	37	2670	Задержка психомоторного и физического развития, расширение желудочков головного мозга, дефект межжелудочковой перегородки, спленомегалия, мышечная гипотония, эпикант, миндалевидные глазные щели, частичный птоз, голубые склеры, горизонтальные брови, плоское переносье, рот «карпа», клинодактилия мизинцев, пигментные пятна. 46,XX,1phqh,9phqh arr1p35.2(31,518,095-31,556,968)×1,2p11.2(89,021,047-89,035,676)×1,2q34(212,520,837-212,525,001)×1,3q29(196,801,757-196,806,286)×1,4p14(39,221,557-39,228,097)×1,9q33.2(123,251,136-123,259,883)×1,12q14.1(58,172,984-58,183,036)×1,13q33.1(103,508,826-103,514,025)×1,15q24.1(74,237,083-74,241,624)×1,17q12(35,684,411-35,694,063)×1
45.	Дев.	1г 9 мес.	28	2470	Задержка моторного развития, стридорозное дыхание, гипотония мышц, гиперметропический астигматизм, открытое овальное окно, пупочная грыжа, обструктивный рецидивирующий бронхит, макроцефалия/гидроцефалия, гипогликемия, транзиторная мик-

№	Пол	Возраст обра- щения	Срок бере- менно- сти (нед.)	Масса тела при рожде- нии (г)	Клинические, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические исследования
					рогемаурия, повышение подвижности правой почки, ларингомалиция, плоское лицо, широкий кончик носа, низко расположенные ушные раковины, мелкие ямочки по задней поверхности завитка ушной раковины. 46,XX,хромосомная нестабильность в виде анеуплоидии аутосом arrXq26.3(135,250,114-135,255,808)×4,Xq27.3(147,026,038-147,028,535)×4,6p22.3(24,581,183-24,591,366)×3,10q11.23q21.1(52,693,425-58,936,553)×2~3,10q21.1(53,156,807-57,931,080)×3,22q13.33(51,103,902-51,121,377)×3
46.	Мал.	2г 6 мес.	37	2650	Грубая задержка психомоторного развития (плохо держит голову, не переворачивается, сидит с поддержкой), выраженная мышечная гипотония, маленькие кисти и стопы, мелкие черты лица, низкое физическое развитие, эпилептичность. 46,XY,9phqh arr7q22.1(101,896,751-101,910,500)×1,12p13.31(7,974,128-8,134,669)×3,17q21.1(38,360,616-38,393,985)×1
47.	Мал.	1г 3 мес.	36	2680	Выраженная задержка психического, моторного и речевого развития, гидроцефалия, гипотония мышц, эпикант, короткие антимонголоидные глазные щели, утолщенное переносье, выступающие лобные бугры, рот в виде «шатра», маленькие ушные раковины, гипоплазия среднего пальца стоп, капиллярные гемангиомы на затылке, небольшого размера половые органы; на МРТ увеличение желудочков мозга. 46,XY arr8p22(15,599,046-15,607,980)×1,8q24.22(134,024,461-134,037,237)×1 arr7q21.11(78,688,291-79,883,027)×2hmr
48.	Дев.	2г 6 мес.	35	2660	Задержка психомоторного и психоречевого развития, микроцефалия, синофриз, плоское переносье, круглый кончик носа, гипоплазия нижней челюсти, полные губы, низко расположенные деформированные ушные раковины, брахидактилия, поперечная складка на левой ладони. 46,XX arrXp22.32p22.2(5,687,740-10,022,174)×2~3,Xq27.3(147,020,493-147,028,536)×3,3q23(140,278,894-140,282,341)×1,13q14.2(49,022,499-

№	Пол	Возраст обращения	Срок бере- менно- сти (нед.)	Масса тела при рожде- нии (г)	Клинические, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические исследования
49.	Мал.	4 г	34	2250	49,048,436)×1,16q22.2(71,396,138-71,408,527)×1 Нарушение физического развития, белково-энергетическая недостаточность, дефицит массы тела, мышечная гипотония, гипотрофия, выраженная подкожная венозная сеть. 46,XY arr1p36.31(6,035,136-6,044,155)×1,2q31.2(179,607,590-179,614,149)×1,11q14.1(77,928,096-77,936,687)×1
50.	Мал.	1г 9 мес.	32	1850	Задержка внутриутробного, физического и психомоторного развития, дефицит массы тела по отношению к росту, гипоспадия, двусторонний крипторхизм, открытые аортальный проток и овальное окно, выступающий лоб, плоский затылок, низко расположенные ротированные кзади диспластичные ушные раковины, голубоватые склеры, узкие плечи, широкие кисти и стопы, высокий свод и гипоплазия ногтей на пальцах стоп, сакральный синус, передняя дистопия ануса. 46,XY arrXp22.33(1,101,396-1,460,168)×3,2p15(63,253,848-63,295,653)×1,2q33.2(203,426,688-203,431,192)×1,7p22.2p21.3(3,235,409-7,970,015)×1,7p22.3p21.3(43,360-8,320,635)×1~2,9q34.3(140,050,493-140,085,559)×1,10q23.31(89,613,196-89,651,924)×1,16p13.3(395,739-400,643)×1
51.	Мал.	1г 5 мес.	36	2640	Задержка психомоторного и психоречевого развития, расщелина мягкого и части твердого неба, оттопыренные диспластичные низко расположенные ушные раковины, верхняя губа в виде «шатра», гипоплазия средней части лица, отсутствие зубов, выраженное слюноотделение, «седловидный» нос, преаурикулярные ямочки с двух сторон, короткая уздечка языка; нарушение координации движений, умеренно выраженная гипотония мышц; на МРТ признаки умеренной внутренней гидроцефалии, киста прозрачной перегородки, истончение мозолистого тела, на УЗИ уменьшение объема и ротация левой почки. Двусторонняя паховая грыжа, долгое время не срастался перелом ключицы. 46,XY arr11q21q25(93,219,941-134,938,470)×3,18q23(77,560,927-78,014,123)×1
52.	Дев.	9 мес.	37	2590	Задержка моторного и физического развития, выраженная гипотония мышц, крупные оттопыренные ушные раковины, выраженный эпикант, длинные

№	Пол	Возраст обра- щения	Срок бере- менно- сти (нед.)	Масса тела при рожде- нии (г)	Клинические, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические исследования
					пальцы, астеничное телосложение, дефицит подкожно-жировой клетчатки, открытое овальное окно и артериальный проток, судорожная активность в левой лобной области; на МРТ неравномерное истончение мозолистого тела, незавершенная миелинизация белого вещества головного мозга. 46,XX arrXq27.3(147,020,493-147,042,373)×3,3q29(197,006,539-197,356,334)×3,6p24.3(10,546,479-10,567,408)×1,9q21.13(74,814,162-74,818,709)×4,11p15.1(18,500,906-18,526,284)×4

При цитогенетическом исследовании у 6 пациентов из 52 обследованных детей (11,5%) были выявлены следующие численные и структурные аномалии: мозаицизм по моносомии хромосомы Y – кариотип 45,X[2]/46,XY[28] (случай №7 в таблице); делеции хромосомы 2 (два случая) – кариотипы 46,XX,del(2)(q37.2),1qh-,15chnh+ и 46,XY,del(2)(p25.1)[2]/46,XY[20] (случаи №8 и №31); делеция хромосомы 14 (случай №12): кариотип – 46,XX,del(14)(q32.3); делеция хромосомы 3: кариотип – 46,XX,del(3)(p27.5) (случай №30); «дополнительный» материал на хромосоме 10: кариотип 46,XX,add(10)(q26) (случай №42). Кроме того у трёх пациентов (5,8%) была выявлена хромосомная нестабильность, одна из которых в виде анеуплоидии аутосом (№19, №34, №47). Известно, что аномалии хромосом в группах детей, родившихся в срок с задержкой психомоторного, физического развития, наличием МАР и ВПР, встречаются также от 10% до 18% [22, 33].

Из таблицы видно, что из 52 пациентов у 50 (96,15%) были выявлены различные геномные нарушения: у 25 – крупные (от 500 тыс. пн и более) аномалии (48,1%), у 20 – вариации числа копий последовательности ДНК (CNV) (38,5%), у четырех – инtragenные перестройки (7,7%), у одного наблюдалась только потеря гетерозиготности без других аномалий генома (1,9%). У двоих

пациентов аномалий генома методом молекулярного кариотипирования выявлено не было (3,85%).

Геномные перестройки, включая сочетанные, выявлены у 19 из 52 (36,5%) пациентов с врожденными пороками сердца, у 7 детей (13,5%) – с расстройствами аутистического спектра, у 8 детей (15,4%) обнаружена эпилепсия (судороги/эпиактивность на ЭЭГ), у 10 (19,2%) – нефрологические нарушения.

Количество всевозможных перестроек, включая сочетанные, по разным группам хромосом в группе из 52 детей были следующие:

По хромосоме X выявлены аномалии у 16 из 52 (30,8%) детей, среди них были дупликации, мозаичные дупликации, делеции и трипликации; по хромосоме Y – у 3 (5,8%), среди которых дупликации и делеция.

Аномалии хромосомы 1 обнаружены у 11 детей (21,2%), среди них были делеции, дупликации, потери гетерозиготности (унипарентальные дисомии УД), трипликация, а перестройки хромосомы 2 – у 8 детей (15,4%), среди них делеции, трипликация, потеря гетерозиготности (УД). Аномалии хромосомы 3 встречались у 10 детей (19,2%), включая делеции, дупликации, мозаичную дупликацию и трипликацию, потерю гетерозиготности (УД).

По хромосоме 4 аномалии встречались у 6 детей (11,5%), среди них делеции, дупликации, трипликация и потеря гетерозиготности (УД), по хромосоме 5 – у 8 детей (15,4%), среди них дупликации, делеции, потери гетерозиготности (УД), мозаичная делеция и трипликация.

По хромосоме 6 аномалии были обнаружены у 9 детей (17,3%), среди них делеции, потери гетерозиготности (УД), дупликации и трипликация; по хромосоме 7 – у 15 детей (28,8%), среди них делеции, потери гетерозиготности (УД), дупликации, трипликация и мозаичная делеция; по хромосоме 8 – у 4 детей (7,7%), среди них делеции, потери гетерозиготности (УД), дупликация; по хромосоме 9 – у 7 детей (13,5%), среди них делеции, дупликации и трипликация; по хромосоме 10 – у 10 детей (19,2%), среди них дупликации, делеции, мозаичная дупликация, трипликация и потеря гетерозиготности (УД); по хромосоме 11 – у 7 детей (13,5%), среди них делеции, дупликации, трипликация и потеря гетерозиготности (УД); по хромосоме 12 – у 4 детей (7,7%), среди них делеции, дупликации.

По хромосоме 13 аномалии генома обнаружены у 5 детей (9,6%), среди них делеции, потеря гетерозиготности (УД); по хромосоме 14 – у 2 детей (3,9%), среди них делеция, мозаичная делеция, дупликация и мозаичная дупликация; по хромосоме 15 – у 6 детей (11,5%), среди них делеции, потеря гетерозиготности (УД).

Аномалии по хромосоме 16 выявлены у 8 детей (15,4%), среди них делеции, дупликации, трипликация и мозаичная дупликация; по хромосоме 17 – у 10 детей (19,2%), среди них делеции, дупликации, потери гетерозиготности (УД), мозаичные делеция и дупликация, трипликация; по хромосоме 18 – у 4 детей (7,7%), среди них делеции, дупликации.

Аномалии по хромосоме 19 обнаружили у 2 детей (3,9%), среди них делеция, мозаичная делеция, а по хромосоме 20 также у 2 детей (3,9%), среди них делеция и дупликация.

Аномалия по хромосоме 21 выявлена у 1 ребёнка (1,9%) – дупликация, а по хромо-

соме 22 у 4 детей (7,7%), среди них дупликации и делеция.

Анализируя геномные аномалии, следует отметить, что всего было выявлено 205 различных аномалий у всех представленных пациентов, из них больше всего по хромосоме X (12,7%), меньше по хромосомам Y, 14, 18, 19, 20, 21, 22 (от 0,5 до 1,95%).

Следует отметить, что в представленной группе из 52 детей более всего встречались делеции: у 39 пациентов (75,0%), почти в таком же числе выявлены дупликации: в 38 случаях (73,1%); трипликация – у 11 пациентов (21,2%) и потери гетерозиготности (УД) также в 11 случаях (21,2%). Мозаичные геномные нарушения встречались в 25% (13 случаев), как правило, совместно с регулярными перестройками. В группе исследуемых детей мозаицизм выявлен по хромосомам 3, 5, 7, 10, 14, 16, 17, 19 и X. Чаще всего мозаицизм выявлен по хромосоме X (3 из 13 случаев), по хромосомам 14 и 17 в двух случаях. Следует отметить, что с разработкой современных геномных технологий проблема мозаицизма интенсивно развивается многими лабораториями [34, 35].

Известно, что использование биоинформатических методов является необходимым при интерпретации полученных с помощью молекулярного кариотипирования данных для определения молекулярных механизмов заболеваний. Одним из биоинформатических подходов к идентификации патогенности геномных перестроек и ассоциации вариабельности последовательности ДНК с определенными фенотипическими признаками, является приоритизация генов-кандидатов [1, 12, 28, 29]. Поскольку функциональные характеристики генов являются относительно постоянными параметрами, совокупность данных относительно изменений числа их копий может быть использована для оценки последствий генных и хромосомных (геномных) мутаций у недоношенных детей с нарушением развития и, возможно, в дальнейшем для прогнозирования и коррекции развития ребенка. В исследуемой группе из 52 недоношенных детей при применении оригинального биоинформатического анализа выявлено большое

число генов (более 1500), среди них из повторяющихся генов были следующие: чаще всего выявлен ген *FMR1* [OMIM:309550], ассоциированный с умственной отсталостью, сцепленной с ломкой хромосомой X; реже гены *GEMIN4* [OMIM:606969] – неврологические расстройства с микроцефалией, катарактой и почечными аномалиями; *INPP5K* [OMIM:607875] – врожденная мышечная дистрофия с катарактой и умственной отсталостью; *BHLHA9* [OMIM:615416] – комплекс камптополидактилии, синдактилия, мезоаксиальный синостоз с восстановлением фаланг; *NLGN3* [OMIM:300336] – синдром Аспергера и X-сцепленный аутизм; *OPHN1* [OMIM:300127] – X-сцепленная умственная отсталость с гипоплазией мозжечка и характерным внешним видом лица; *PHF6* [OMIM:300414] – синдром Берьесона-Форсмана-Лемана (наследственная X-сцепленная форма ожирения со слабоумием); *MIR96* [OMIM:611606] – аутосомно-доминантная глухота; *BCL11B* [OMIM:606558] – нарушение интеллектуального развития с дисморфией лица, задержкой речи и аномалией Т-клеток; *HERC2* [OMIM:605837] – умственная отсталость; *WDR81* [OMIM:614218] – мозжечковая атаксия, умственная отсталость, гидроцефалия с аномалиями головного мозга; *MYH2* [OMIM:160740] – проксимальная миопатия и офтальмоплегия; *RUNX2* [OMIM:600211] – метафизическая дисплазия с верхнечелюстной гипоплазией и брахидактилией.

Анализируя полученные результаты, следует отметить, что повторяющиеся гены, обнаруженные в нашем исследовании, больше связаны с клиническими проявлениями (МАР, ВПР, задержкой психомоторного и психоречевого развития) [30, 36, 37, 38], а связать их с недоношенностью и маловесностью пока не представляется возможным [39, 40, 41, 42].

Таким образом, вариабельность полученных нами клинических и молекулярных результатов не позволяет провести корректные сопоставления патологической значимости геномных нарушений в плане недоношенных и маловесных детей. Тем не ме-

нее, совместное использование методов, направленных на исследование индивидуальных и межклеточных вариаций генома в сочетании с оригинальным биоинформатическим анализом, определяет патогенетическое значение вариаций генома [21, 30, 43] и основную причину как фенотипических проявлений геномных перестроек, связанных с механизмом заболевания [25, 36, 37, 43] в каждом конкретном случае (персонафицированная геномика), так в изучении недоношенности.

Заключение. Полученные нами данные обследования 52х детей, родившихся в сроке беременности менее 37-ми недель и имевших клиническую картину с задержкой психомоторного развития в сочетании с мышечной гипотонией, гиподинамией, ВПР и МАР, установили, что у 96,15% из них отмечались различные нарушения в геноме, что позволило предположить роль этих нарушений в клинических проявлениях и возможную их значимость в преждевременных родах.

При цитогенетическом исследовании обнаружены численные и структурные аномалии хромосом в 11,5% случаев. При молекулярно-цитогенетическом исследовании обнаружены как регулярные, так и мозаичные случаи (25%) нарушения генома. Следует отметить, что мозаичные случаи встречались совместно с регулярными. Делеции и дупликации генома встречались практически в одинаковом количестве (39 и 38 случаев, соответственно). По хромосоме X выявлены аномалии в большем числе по сравнению с другими хромосомами – 30,8%. Геномные перестройки, включая сочетанные, обнаружены у 19 из 52 (36,5%) пациентов с врожденными пороками сердца, у 7 детей (13,5%) – с расстройствами аутистического спектра, у 8 детей (15,4%) обнаружена эпилепсия (судороги/эпиактивность на ЭЭГ), у 10 (19,2%) – нефрологические нарушения. Практически все пациенты в исследуемой группе были с нарушением психомоторного развития. При биоинформатическом анализе, используя приоритизацию генов, выявлены часто встречающиеся повторяющиеся гены в группе из 52 недоношенных детей, среди них были следующие: чаще всего вы-

явлен ген *FMR1* [OMIM:309550], ассоциированный с умственной отсталостью, сцепленной с ломкой хромосомой X; реже гены *GEMIN4* [OMIM:606969]; *INPP5K* [OMIM:607875]; *BHLHA9* [OMIM:615416]; *NLGN3* [OMIM:300336]; *OPHN1* [OMIM:300127]; *PHF6* [OMIM:300414]; *MIR96* [OMIM:611606]; *BCL11B* [OMIM:606558]; *HERC2* [OMIM:605837]; *WDR81* [OMIM:614218]; *MYH2* [OMIM:160740]; *RUNX2* [OMIM:600211]. Выявленные повторяющиеся гены больше связаны с клиническими проявлениями (МАР, ВПР, задержкой психомоторного и психоречевого развития), а связать их с недоношенностью и маловесностью пока не представляется возможным. Вариабельность полученных молекулярных и клинических данных пока не позволяет провести корректные корреляции патологической значимости геномных нарушений в плане недоношенности и маловесности.

В заключении следует отметить, что биоинформатические методы необходимы для интерпретации данных, полученных с помощью молекулярного кариотипирования. Следует также особо подчеркнуть, что одним из подходов к идентификации патогенности геномных перестроек является приоритизация генов. Данные относительно изменений числа копий последовательности ДНК, как было показано, можно использовать для оценки фенотипических последствий геномных и хромосомных (геномных) мутаций у недоношенных детей с нарушением развития.

Полученные клинические и молекулярные результаты не позволяют, как было отмечено выше, провести однозначные сопоставления патологической значимости геномных нарушений и недоношенностью. Однако можно предположить, что накопление данных по генетическим исследованиям – совместное использование молекулярно-цитогенетических и углублённых биоинформатических технологий для исследования индивидуальных и межклеточных вариаций генома с анализом клинических проявлений – позволит охарактеризовать механизм заболевания в каждом отдельном случае (персонифицированная геномика) и вы-

явить возможные ассоциации с рождением недоношенных и маловесных детей. Полученные нами данные и приведенный анализ может указывать на целесообразность и продолжение исследований, направленных на решение проблем недоношенности.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Нестабильность хромосом в нервных клетках человека в норме и при нервно-психических заболеваниях / Ю.Б. Юров [и др.] // Генетика. 2010. Т. 46, N 10. С. 1352-1355.
2. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. Somatic cell genomics of brain disorders: a new opportunity to clarify genetic-environmental interactions // Cytogenet Genome Res. 2013. Vol. 139(3). P. 181-188.
3. Kloosterman W.P., Hochstenbach R. Deciphering the pathogenic consequences of chromosomal aberrations in human genetic disease // Mol Cytogenet. 2014. Vol. 7(100). P. 5. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-014-0100-9>
4. Vorsanova S.G., Yurov Y.B., Soloviev I.V., et al. Molecular cytogenetic diagnosis and somatic genome variations // Curr Genom. 2010. Vol. 11(6). P. 440-446. DOI: <https://doi.org/10.2174/138920210793176010>
5. Молекулярно-цитогенетические и биоинформатические исследования делеции хромосомы 6 (6q22.1-q23.2): возможности интерактивного анализа / И.Ю. Юров [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2017. N 6. С.137-137.
6. Carvill G.L., Mefford H.C. Microdeletion syndromes // Curr Opin Genet. 2013. Vol. 23(3). P. 232-239. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gde.2013.03.004>
7. 4q21.2q21.3 duplication: molecular and neuropsychological aspects / I.Y. Iourov [et al.] // Curr Genomics. 2018. Vol. 19(3). P.173-178. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389202918666170717161426>
8. Microdeletion and microduplication syndromes / A. Weise [et al.] // J Histochem Cytochem. 2012. Vol. 60(5). P. 346-358. DOI: <https://doi.org/10.1369/0022155412440001>
9. Структурная вариация генома в виде микродупликации короткого плеча хромосомы 5, ассоциированная с мозаичной анеупloidией / С.Г. Ворсанова [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2015. N 9, Ч. 1. С. 39-43.

10. Структурные вариации генома при аутистических расстройствах с умственной отсталостью / И.Ю. Юров [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. СС Корсакова. 2016. N 116(7). С. 50-54. DOI: 10.17116/jnevro20161167150-54
11. Chromosomal instability (CIN): what it is and why it is crucial to cancer evolution / H.H. Heng [et al.] // Cancer Metastasis Rev. 2013. N 32. P. 325-340. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10555-013-9427-7>
12. 3p22.1p21.31 microdeletion identifies CCK as Asperger syndrome candidate gene and shows the way for therapeutic strategies in chromosome imbalances / I.Y. Iourov [et al.] // Mol Cytogenet. 2015. N 8. P. 82. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-015-0185-9>
13. Clausson B., Lichtenstein P., Cnattingius S. Genetic influence on birthweight and gestational length determined by studies in offspring of twins // BJOG: Int J Obstet GY. 2000. Vol. 107(3). P. 375-381. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2000.tb13234.x>
14. Hallman M. Premature birth and diseases in premature infants: common genetic background? // J Matern Fetal Neonatal Med. 2012. Vol. 25(1). P. 21-24. DOI: <https://doi.org/10.3109/14767058.2012.667600>
15. The genetics of preterm birth: Progress and promise / N.K. Monangi [et al.] // M: W.B. Saunders. In Seminars in perinatology. 2015. Vol. 39(8). P. 574-583. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2015.09.005>
16. Riegel M. Human molecular cytogenetics: from cells to nucleotides // Genet Mol Biol. 2014. Vol. 37(1). P. 194-209. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572014000200006>
17. Кешишян Е.С., Сахарова Е.С. Психомоторное развитие как критерий неврологического здоровья недоношенного ребёнка // Лечащий врач. 2004. N 5. С. 57.
18. The genomics of preterm birth: from animal models to human studies / K.Y. Bezold [et al.] // Genome Med. 2013. Vol. 5(4). P. 34. DOI: <https://doi.org/10.1186/gm438>
19. Cognitive and behavioral outcomes of school-aged children who were born preterm: a meta-analysis / Bhutta A.T. [et al.] // Jama. 2002. Vol. 288(6). P. 728-737. DOI: 10.1001/jama.288.6.728
20. Genetic and environmental influences on birth weight, birth length, head circumference, and gestational age by use of population-based parent-offspring data / A. Lunde [et al.] // Am J Epidemiol. 2007. Vol. 165(7). P. 734-741. DOI: <https://doi.org/10.1093/aje/kwk107>
21. Современные представления о молекулярной генетике и геномике аутизма / С.Г. Ворсанова [и др.] // Фундаментальные исследования. 2013. N 4, Ч. 2. С. 356-367.
22. Юров И.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б. Геномные и хромосомные болезни центральной нервной системы: молекулярные и цитогенетические аспекты. М.: Медпрактика-М, 2014. С. 384.
23. Vorsanova S.G., Yurov Y.B., Iourov I.Y. Neurogenomic pathway of autism spectrum disorders: linking germline and somatic mutations to genetic-environmental interactions // Curr Bioinform. 2017. Vol. 12(1). P. 19-26.
24. 5p13.3p13.2 duplication associated with developmental delay, congenital malformations and chromosome instability manifested as low-level aneuploidy / I.Y. Iourov [et al.] // Springer Plus. 2015. N 4(616). P.6. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1399-3>
25. Platt M.J., Cans C., Johnson A. Trends in cerebral palsy among infants of very low birth weight (<1500g) or born prematurely (<32 weeks) in 16 European centres: a data base study // Lancet. 2007. N 369. P. 43-50. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60030-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60030-0)
26. Copy number variants in short children born small for gestational age / J.M. Wit [et al.] // Horm Res Paediatr. 2014. Vol. 82(5). P. 310-318. DOI: 10.1159/000367712
27. Юров И.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б. Трансляционные молекулярно-генетические исследования аутизма // Психиатрия. 2013. N 1(57). С. 51-57.
28. Приоритизация процессов-кандидатов при умственной отсталости и аутизме на основе данных молекулярного кариотипирования о вариациях числа копий последовательностей ДНК / М.А. Зеленова [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2018. N 3. С. 100-104.
29. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. In silico molecular cytogenetics: a bioinformatic approach to prioritization of candidate genes and copy number variations for basic and clinical genome research // Mol Cytogenet. 2014. Vol. 7(98). P. 9. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-014-0098-z>
30. Биомаркеры неонкологических болезней мозга, обусловленных хромосомной нестабильностью, у детей / С.Г. Ворсанова [и др.] // Научный результат. Сер. Медицина и фарма-

ция. 2018. Т. 4, N 2. С. 8-18. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-2-0-2

31. Yurov Y.B., Vorsanova S.G., Iourov I.Y. Network-based classification of molecular cytogenetic data // *Curr Bioinform.* 2017. Vol. 12(1). P. 27-33.

32. Children born small for gestational age: differential diagnosis, molecular-genetic evaluation and implications [Electronic] / M.J. Finken [et al.] // *Endocrinol Rev.* 2018. DOI: 10.1210/er.2018-00083

33. Behavioral phenotypes in genetic syndromes associated with intellectual disability and autism / M.A. Zelenova [et al.] // *Clin Neuro Neurological Res Int J.* 2018. Vol. 1(1). P. 180001.

34. Behavioral variability and somatic mosaicism: a cytogenomic hypothesis / S.G. Vorsanova [et al.] // *Curr Genom.* 2018. Vol. 19(3). P. 158-162. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389202918666170719165339>

35. Unexplained autism is frequently associated with low-level mosaic aneuploidy / Y.B. Yurov [et al.] // *J Med Genet.* 2007. N 44. P. 521-525. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/jmg.2007.049312>

36. Genome-wide screening of copy number variants in children born small for gestational age reveal several candidate genes involved in growth pathways [Electronic] / A.P. Canton [et al.] // *Eur J Endocrinol.* 2014. EJE-14.

37. Genetic analyses in small-for-gestational-age newborns / S.E. Stalman [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* 2018. Vol. 103(3). P. 917-925. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2017-01843>

38. Major congenital anomalies place extremely low birth weight infants at higher risk for poor growth and developmental outcomes [Electronic] / R.V. Walden [et al.] // *Pediatrics.* 2007. Vol. 120(6). P. e1512.

39. Common genetic variants and risk of brain injury after preterm birth [Electronic] / J.P. Boardman [et al.] // *Pediatrics.* 2014. Vol. 133(6). P. e1655-63.

40. A genome-wide association study of spontaneous preterm birth in a European population / W. Wu [et al.] // *F1000Research.* 2013. N 2. P. 225. DOI: <https://doi.org/10.12688/f1000research.2-255.v1>

41. A genome wide association study of early spontaneous preterm delivery / H. Zhang [et al.] // *Genet epidemiol.* 2015. Vol. 39(3). P. 217-226. DOI: <https://doi.org/10.1002/gepi.21887>

42. Genetic associations with gestational duration and spontaneous preterm birth / G. Zhang [et

al.] // *New Eng J Med.* 2017. Vol. 377(12). P. 1156-1167. DOI: 10.1056/NEJMoa1612665

43. Outcome of extremely preterm infants (<1,000 g) with congenital heart defects from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network / A. Pappas [et al.] // *Pediatr Cardiol.* 2012. Vol. 33(8). P. 1415-1426. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00246-012-0375-8>

References

1. Yurov YB, Vorsanova SG, Soloviev IV, et al. [Chromosome instability in human nerve cells in control and individuals with neuropsychiatric diseases]. *Genetika.* 2010;46(10):1352-1355. Russian.

2. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB. Somatic cell genomics of brain disorders: a new opportunity to clarify genetic-environmental interactions. *Cytogenet Genome Res.* 2013;139(3): 181-188.

3. Kloosterman WP, Hochstenbach R. Deciphering the pathogenic consequences of chromosomal aberrations in human genetic disease. *Mol Cytogenet.* 2014;7(100):5. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-014-0100-9>

4. Vorsanova SG, Yurov YB, Soloviev IV, et al. Molecular cytogenetic diagnosis and somatic genome variations. *Curr Genom.* 2010;11(6): 440-446. DOI: <https://doi.org/10.2174/138920210793176010>

5. Iourov IY, Vorsanova SG, Demidova IA, et al. [Molecular-cytogenetic and bioinformatic studies of chromosome 6 (6q22.1-q23.2) deletion: the possibility of interactome analysis]. *Sovremennyye problemi nauki i obrazovaniya.* 2017;6:137-137. Russian.

6. Carvill GL, Mefford HC. Microdeletion syndromes. *Curr Opin Genet.* 2013;23(3):232-239. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gde.2013.03.004>

7. Iourov IY, Zelenova MA, Vorsanova SG, et al. 4q21. 2q21.3 duplication: molecular and neuropsychological aspects. *Curr Genom.* 2018;19(3):173-178. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389202918666170717161426>

8. Weise A, Mrasek K, Klein E, et al. Microdeletion and microduplication syndromes. *J Histochem Cytochem.* 2012;60(5):346-358. DOI: <https://doi.org/10.1369/0022155412440001>

9. Vorsanova SG, Yurov YB, Kurinnaya OS, et al. [Structural genomic variation represented by a microduplication of the short arm of chromosome 5, associated with mosaic aneuploidy].

Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy. 2015;9(1):39-43. Russian.

10. Iourov IY, Vorsanova SG, Korostelev SA, et al. [Structural genomic variations in autistic disorders with intellectual disability]. Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. SS Korsakova. 2016;116(7):50-54. Russian. DOI: 10.17116/jnevro20161167150-54

11. Heng HH, Bremer SW, Stevens JB, et al. Chromosomal instability (CIN): what it is and why it is crucial to cancer evolution. Cancer Metastasis Rev. 2013;32:325-340. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10555-013-9427-7>

12. Iourov IY, Vorsanova SG, Voinova VY, et al. 3p22.1p21.31 microdeletion identifies CCK as Asperger syndrome candidate gene and shows the way for therapeutic strategies in chromosome imbalances. Mol Cytogenet. 2015;8:82. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-015-0185-9>

13. Clausson B, Lichtenstein P, Cnattingius S. Genetic influence on birthweight and gestational length determined by studies in offspring of twins. BJOG: Int J Obstet GY. 2000;107(3):375-381. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2000.tb13234.x>

14. Hallman M. Premature birth and diseases in premature infants: common genetic background? J Matern Fetal Neonatal Med. 2012;25(1):21-24. DOI: <https://doi.org/10.3109/14767058.2012.667600>

15. Monangi NK, Brockway HM, House M, et al. The genetics of preterm birth: Progress and promise. M: WB Saunders. In Seminars in perinatology. 2015;39(8):574-583. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2015.09.005>

16. Riegel M. Human molecular cytogenetics: from cells to nucleotides. Genet Mol Biol. 2014;37(1):194-209. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572014000200006>

17. Keshishyan ES, Sakharova ES. [Psychomotor development as a criterion for the neurological health of a premature infant]. Lechashchiy vrach. 2004;5:57. Russian.

18. Bezold KY, Karjalainen MK, Hallman M, et al. The genomics of preterm birth: from animal models to human studies. Genome Med. 2013;5(4):34. DOI: <https://doi.org/10.1186/gm438>

19. Bhutta AT, Cleves MA, Casey PH, et al. Cognitive and behavioral outcomes of school-aged children who were born preterm: a meta-analysis. Jama. 2002;288(6):728-737. DOI: 10.1001/jama.288.6.728

20. Lunde A, Melve KK, Gjessing HK, et al. Genetic and environmental influences on birth

weight, birth length, head circumference, and gestational age by use of population-based parent-offspring data. Am J Epidemiol. 2007;165(7):734-741. DOI: <https://doi.org/10.1093/aje/kwk107>

21. Vorsanova SG, Yurov YB, Silvanovich AP, et al. [Modern concepts of molecular genetics and genomics of autism]. Fundamentalnyye issledovaniya. 2013;4(2):356-367. Russian.

22. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB. [Genomic and chromosomal diseases of the central nervous system: molecular and cytogenetic aspects]. M.: Medpraktika-M; 2014:384. Russian.

23. Vorsanova SG, Yurov YB, Iourov IY. Neurogenomic pathway of autism spectrum disorders: linking germline and somatic mutations to genetic-environmental interactions. Curr Bioinform. 2017;12(1):19-26.

24. Iourov IY, Vorsanova SG, Demidova IA, et al. 5p13.3p13.2 duplication associated with developmental delay, congenital malformations and chromosome instability manifested as low-level aneuploidy. Springer Plus. 2015;4(616):6. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1399-3>

25. Platt MJ, Cans C, Johnson A. Trends in cerebral pulsity among infants of very low birth weight (<1500g) or born prematurely (<32 weeks) in 16 European centres: a data base study. Lancet. 2007;369:43-50. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60030-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60030-0)

26. Wit JM, Van Duyvenvoorde HA, Van Klinken JB, et al. Copy number variants in short children born small for gestational age. Horm Res Paediatr. 2014;82(5):310-318. DOI: 10.1159/000367712

27. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB. Translyatsionnyye molekulyarno-geneticheskiye issledovaniya autizma [Translational molecular genetic studies of autism]. Psikiatriya. 2013;1(57):51-57. Russian.

28. Zelenova MA, Vorsanova SG, Yurov YB, et al. [Prioritization of candidate processes for intellectual disability and autism based on molecular karyotyping data about variations in DNA copy number]. Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy. 2018;3:100-104. Russian.

29. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB. In silico molecular cytogenetics: a bioinformatic approach to prioritization of candidate genes and copy number variations for basic and clinical genome research. Mol Cytogenet. 2014;7(98):9. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-014-0098-z>

30. Vorsanova SG, Yurov YB, Demidova IA, et al. [Biomarkers of non-oncological brain diseases caused by chromosomal instability in chil-

dren]. Nauchnyy rezultat. Ser. Meditsina i farmatsiya. 2018;4(2):8-18. Russian. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-2-0-2

31. Yurov YB, Vorsanova SG, Iourov IY. Network-based classification of molecular cytogenetic data. Curr Bioinform. 2017;12(1):27-33.

32. Finken MJ, van der Steen M, Smeets CC, et al. Children born small for gestational age: differential diagnosis, molecular-genetic evaluation and implications. Endocrinol Rev. 2018. DOI: 10.1210/er.2018-00083

33. Zelenova MA, Yurov YB, Vorsanova SG, Iourov IY. Behavioral phenotypes in genetic syndromes associated with intellectual disability and autism. Clin Neuro Neurological Res Int. J.2018;1(1):180001.

34. Vorsanova SG, Zelenova MA, Yurov YB, et al. Behavioral variability and somatic mosaicism: a cytogenomic hypothesis. Curr Genom. 2018;19(3):158-162. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389202918666170719165339>

35. Yurov YB, Vorsanova SG, Iourov IY, et al. Unexplained autism is frequently associated with low-level mosaic aneuploidy. J Med Genet. 2007;44:521-525. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/jmg.2007.049312>

36. Canton AP, Costa SS, Rodrigues TC, et al. Genome-wide screening of copy number variants in children born small for gestational age reveal several candidate genes involved in growth pathways. Eur J Endocrinol. 2014;EJE-14.

37. Stalman SE, Solanky N, Ishida M, et al. Genetic analyses in small-for-gestational-age newborns. J Clin Endocrinol Metab. 2018;103(3):917-925. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2017-01843>

38. Walden RV, Taylor SC, Hansen NI, et al. Major congenital anomalies place extremely low birth weight infants at higher risk for poor growth and developmental outcomes. Pediatrics. 2007;120(6):e1512.

39. Boardman JP, Walley A, Ball G, et al. Common genetic variants and risk of brain injury after preterm birth. Pediatrics. 2014;133(6):e1655-63.

40. Wu W, Clark EA, Manuck TA, et al. A genome-wide association study of spontaneous preterm birth in a European population. F1000Research. 2013;2:225. DOI: <https://doi.org/10.12688/f1000research.2-255.v1>

41. Zhang H, Baldwin DA, Bukowski RK, et al. A genome-wide association study of early spontaneous preterm delivery. Genet Epidemiol. 2015;39(3):217-226. DOI: <https://doi.org/10.1002/gepi.21887>

42. Zhang G, Feenstra B, Bacelis J, et al. Genetic associations with gestational duration and spontaneous preterm birth. New Eng J Med. 2017;377(12):1156-1167. DOI: 10.1056/NEJMoa1612665

43. Pappas A, Shankaran S, Hansen NI, et al. Outcome of extremely preterm infants (<1,000 g) with congenital heart defects from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. Pediatr Cardiol. 2012;33(8):1415-1426. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00246-012-0375-8>

Информация об авторах

Светлана Григорьевна Ворсанова, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, академик РАЕ, заведующая лабораторией, ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», E-mail: svorsanova@mail.ru, ORCID: 0000-0002-4869-5361.

Оксана Сергеевна Куринная, кандидат биологических наук, научный сотрудник, ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», ORCID: 0000-0002-7087-3929.

Юрий Борисович Юров, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, академик РАЕ, заведующий лабораторией, ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», ORCID: 0000-0002-9251-2286.

Мария Александровна Зеленова, кандидат биологических наук, научный сотрудник, ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», ORCID: 0000-0001-7458-5396.

Елена Соломоновна Кешишян, доктор медицинских наук, профессор, врач высшей катего-

рии, руководитель научного отдела и научно-практического центра, ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова».

Виктория Юрьевна Воинова, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», ORCID: 0000-0001-8491-0228.

Ирина Александровна Демидова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», ФГБНУ «Научный центр психического здоровья».

Иван Юрьевич Юров, доктор биологических наук, профессор РАН, заведующий лабораторией, ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», E-mail: ivan.Yurov@gmail.com, ORCID: 0000-0002-4134-8367.

Information about the authors

Svetlana G. Vorsanova, Doctor of Biological Sciences, Professor, Honored Scientist of Russia, Academician of the Russian Academy of Natural Sciences, Head of Laboratory, Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Mental Health Research Center, E-mail: svorsanova@mail.ru, ORCID: 0000-0002-4869-5361.

Oksana S. Kurinnaia, Candidate of Biological Sciences, Researcher, Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics,

Pirogov Russian National Research Medical University, Mental Health Research Center, ORCID: 0000-0002-7087-3929.

Yuri B. Yurov, Doctor of Biological Sciences, Professor, Honored Scientist of Russia, Academician of the Russian Academy of Natural Sciences, Head of Laboratory, Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Mental Health Research Center, ORCID: 0000-0002-9251-2286.

Maria A. Zelenova, Candidate of Biological Sciences, Researcher, Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Mental Health Research Center, ORCID: 0000-0001-7458-5396.

Elena S. Keshishian, Doctor of Medical Sciences, Professor, Doctor of the Highest Category, Head of the Scientific Department and the Scientific and Practical Center, Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University.

Victoria Y. Voinova, Doctor of Medical Sciences, Principal Researcher, Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Mental Health Research Center, ORCID: 0000-0001-8491-0228.

Irina A. Demidova, Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Mental Health Research Center.

Ivan Y. Iourov, Doctor of Biological Sciences, Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of Laboratory, Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Mental Health Research Center, Russian Medical Academy of Continuous Postgraduate Education, E-mail: ivan.Yurov@gmail.com, ORCID: 0000-0002-4134-8367.

Статья поступила в редакцию 4 октября 2018 г.
Receipt date 2018 October 4.

Статья принята к публикации 21 декабря 2018 г.
Accepted for publication 2018 December 21.

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ PHARMACOLOGY, CLINICAL PHARMACOLOGY



УДК: 57.084.1

DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-4

И.И. Любимов,
В.О. Губарева

Сравнительная оценка эффективности производного DMAE 7-16, карбамилированного дарбэпозтина и субстанции C7070 при коррекции гипертензивной нейроретинопатии у крыс

Общество с ограниченной ответственностью «Гурус БиоФарм»,
Большой бульвар, д. 42, стр. 1, помещение 935, г. Москва, территория
Инновационного центра «Сколково», 143026, Российская Федерация
Автор для переписки: В.О. Губарева (VikaZ@rambler.ru)

Аннотация

Актуальность: Повышение эффективности лекарственной терапии гипертензивной нейроретинопатии является одной из важных задач современной фармакологии и офтальмологии. **Цель исследования:** Провести сравнительную оценку эффективности производного DMAE 7-16, карбамилированного дарбэпозтина и субстанции C7070 при коррекции гипертензивной нейроретинопатии у крыс. **Материалы и методы:** Оценку уровня ретинальной микроциркуляции проводили методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с использованием программно-аппаратного комплекса Biopac-systems MP-150 и датчика игольчатого типа TSD-144 (США), программы AcqKnowledge 4.2. Исследовалось производное диметиламиноэтанола DMAE 7-16 (АО "ВНЦ БАВ", Россия), вводимое в дозах 12,5 мг/кг/сут, 25 мг/кг/сут интрагастрально. Субстанцию C7070 (3-(1Н-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновую кислоту) (ЗАО «ОЭЗ «ВладМиВа», Россия) вводили интрагастрально в дозе 50 мг/кг. Карбамилированный дарбэпозтин вводили подкожно в дозе 300 мкг/кг. Пикамилон (Фармстандарт-УфаВИТА, Россия) выбрали как препарат сравнения, вводили с 22 по 28 сутки эксперимента включительно, ежедневно интрагастрально в дозе 30 мг/кг. Оценку клинического течения гипертензивной нейроретинопатии на фоне коррекции исследуемыми фармакологическими средствами проводили на 29 день эксперимента. **Результаты:** эффективная коррекция ретинальной микроциркуляции характерна для производного DMAE 7-16 в дозе 25 мг/кг и C7070 в дозе 50 мг/кг, что превышает среднее значение в группе с коррекцией пикамилоном и сопоставима со средним значением в контрольной группе. В группах с производным DMAE 7-16 в дозе 12,5 мг/кг и карбамилированным дарбэпозтином в дозе 300 мкг/кг не достигаются целевые значения уровня микроциркуляции в сетчатке. По результатам оценки клинического течения гипертензивной нейроретинопатии в группах с введением субстанции C7070, карбамилированного дарбэпозтина и пикамилона зафиксировано возвращение параметров глазного дна к норме. При введении производного DMAE 7-16 в дозе 12,5 мг/кг есть отек и частичная деколорация диска зрительного нерва (ДЗН); в дозе 25 мг/кг отека нет. **Заключение:** Наиболее эффективная коррекция гипертензивной нейроретинопатии на крысах Wistar выявлена у производного DMAE 7-16 в дозе 25 мг/кг и C7070 в дозе 50 мг/кг, превосходящая препарат сравнения пикамилон.

Ключевые слова: C7070; карбамилированный дарбэпоэтин; производное DMAE 7-16; гипертензивная нейроретинопатия.

Информация для цитирования: Любимов И.И., Губарева В.О. Сравнительная оценка эффективности производного DMAE 7-16, карбамилированного дарбэпоэтина и субстанции C7070 при коррекции гипертензивной нейроретинопатии у крыс // Научные результаты биомедицинских исследований. 2019. Т. 5, № 1. С. 52-62 [Lyubimov II, Gubareva VO. Comparative evaluation of the effectiveness of DMAE derivative 7-16, carbamylated darbepoetin and substance C7070 in correction of hypertensive neuroretinopathy in rats. Research Results in Biomedicine. 2019;5(1):52-62 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-4

Igor I. Lyubimov,
Viktoriya O.
Gubareva

Comparative evaluation of the effectiveness of DMAE derivative 7-16, carbamylated darbepoetin and substance C7070 in correction of hypertensive neuroretinopathy in rats

Limited liability company «Gurus BioPharm»,
room 935, bld. 1, 42 Bolshoy Blvd., Skolkovo Innovation Center, Moscow, 143026, Russia
Corresponding author: Viktoria O. Gubareva (VikaZ@rambler.ru)

Abstract

Background: Increasing the effectiveness of drug therapy for hyperintensive neuroretinopathy is one of the important tasks of pharmacology and ophthalmology. **The aim of the study:** To assess the effectiveness of DMAE derivative 7-16, carbamylated darbepoetin and C7070 in comparative aspect in correction of hypertensive neuroretinopathy in rats. **Materials and methods:** The level of retinal microcirculation was assessed by laser Doppler flowmetry (LDF) using the Biopac-systems MP-150 software and hardware complex and the needle type sensor TSD-144 (USA), and the program AcqKnowledge 4.2. Dimethylaminoethanol derivative DMAE 7-16 (OJS company "All-Russian Scientific Center for safety of biologically active substances", Russia) was injected in doses of 12.5 mg/kg/day, 25 mg/kg/day intragastric. Substance C7070 (3-(1H-benzimidazole-2-yl)-1,2,2-trimethylcyclopentanone acid) (JSC "Experimental Plant "VLADMIVA", Russia) was injected intragastrically in a dose of 50 mg/kg. Carbamylated darbepoetin was injected subcutaneously in a dose of 300 mcg/kg. Picamilon (Pharmstandard-Ufavita, Russia) was chosen as a comparison drug injected from 22nd to 28th day of the experiment inclusively, intragastrically, in a dose of 30 mg/kg. The evaluation of the clinical course of hypertensive neuroretinopathy with the correction by investigated pharmacological agents was performed on day 29th of the experiment. **Results:** Effective retinal microcirculation correction was found in DMAE derivative 7-16 in a dose of 25 mg/kg and C7070 in a dose of 50 mg/kg, which exceeds the mean value in the group with picamilon correction and is comparable to the mean value in the control group. In groups with DMAE derivative 7-16 in a dose of 12.5 mg/kg and carbamylated darbepoetin in a dose of 300 µg/kg, the target values of the microcirculation level in retina were not achieved. According to the results of evaluation of the clinical course of hypertensive neuroretinopathy in the groups with the introduction of substance C7070, carbamylated darbepoetin and picamilon, the parameters of the eye fundus were returned to normal. With the introduction of DMAE derivative 7-16 in a dose of 12.5 mg/kg there was swelling and partial optic disc decoloration; in a dose of 25 mg/kg

there was no edema. **Conclusion:** The most effective correction of hypertensive neuroretinopathy in Wistar rats was detected in DMAE derivative 7-16 in a dose of 25 mg/kg and C7070 in a dose of 50 mg/kg, superior to the picamilon.

Key words: C7070; carbamylated darbepoetin; DMAE derivative 7-16; hypertensive neuroretinopathy

Введение. Артериальная гипертензия приводит к большой инвалидизации пациентов, так как основная масса людей не подозревает о повышении давления на ранних этапах ее развития. А при длительном, запущенном течении болезни происходит поражение органов-мишеней (сетчатка, почки, печень, головной мозг) [1, 2]. Изменения глазного яблока при повышенном артериальном давлении среди других проявлений этой болезни занимают особое положение. У 63 % пациентов с гипертонической болезнью имеются проявления гипертензивной ангиопатии [3, 4]. Раннее выявление патологических изменений, происходящих в области глазного дна, позволяет своевременно приступить к лечению [5].

Говоря о прогрессировании гипертензивной ретинопатии, следует отметить три главных фактора: сужение и повышение проницаемости сосудов, а также артериосклероз. Выраженное спазмирование артериол из-за сужения просвета их стенок происходит в ответ на повышение артериального давления [6]. Появляются кровоизлияния в толще сетчатки, обусловленные повреждением капилляров в слое нервных волокон в зоне заднего полюса глаза. Вышеперечисленные изменения в сетчатке, безусловно, приводят к нарушению кровоснабжения и развитию ишемических состояний, которые можно корректировать путем применения определенных фармакологических препаратов. С целью неспецифической коррекции ретинопатий в клинике применяются гипогликемические средства; ангиопротекторы; антиагреганты; средства, снижающие проницаемость капилляров и др. [7, 8].

Лечение вышеперечисленными препаратами не всегда дает нужный результат, что подтверждает актуальность поиска лекарственных средств для лечения ишемических состояний сетчатки [9].

Поэтому повышение эффективности лекарственной терапии гипертензивной нейроретинопатии является важной задачей современной фармакологии и офтальмологии. Изучение действия субстанции C7070, карбамилированного дарбэпоэтина (дарбэпоэтин является эффективным нейропротектором [10]), производного DMAE 7-16 в сравнительном аспекте при развитии гипертензивной нейроретинопатии у лабораторных крыс, с нашей точки зрения, наиболее перспективно и не изучено в достаточном объеме.

Цель исследования: провести сравнительную оценку эффективности производного DMAE 7-16, карбамилированного дарбэпоэтина и субстанции C7070 при коррекции гипертензивной нейроретинопатии у крыс.

Материалы и методы. Производное DMAE 7-16 (АО "ВНЦ БАВ", Россия) вводили животным в виде водного раствора субстанции в дозах 12,5 мг/кг/сут и 25 мг/кг/сут интрагастрально (рекомендации АО "ВНЦ БАВ") за 60 мин до введения N-нитро-L-аргинин метилового эфира (L-NAME) каждый день в течение 28 дней при коррекции экспериментальной гипертензивной нейроретинопатии [11].

Субстанцию C7070 (3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновую кислоту) (ЗАО «ОЭЗ «ВладМиВа», Россия) вводили интрагастрально в дозе 50 мг/кг один раз в виде крахмального раствора, на 26 день эксперимента, за 60 мин до введения L-NAME и повышения внутриглазного давления (ВГД) при коррекции экспериментальной гипертензивной нейроретинопатии.

Карбамилированный дарбэпоэтин инъектировали подкожно в зону холки в дозе 300 мкг/кг 1 раз в 3 дня, за 30 мин до введения L-NAME (рекомендации ООО «Фармапарк», Россия).

В качестве препарата сравнения при коррекции гипертензивной нейроретинопатии за 60 мин до введения L-NAME, с 22 по 28 день эксперимента включительно, каждый день животным вводили пикамилон, (Фармстандарт-УфаВИТА, Россия) интрагастралью в дозе 30 мг/кг. Данный препарат выбран как препарат сравнения, исходя из клинических рекомендаций по офтальмологии.

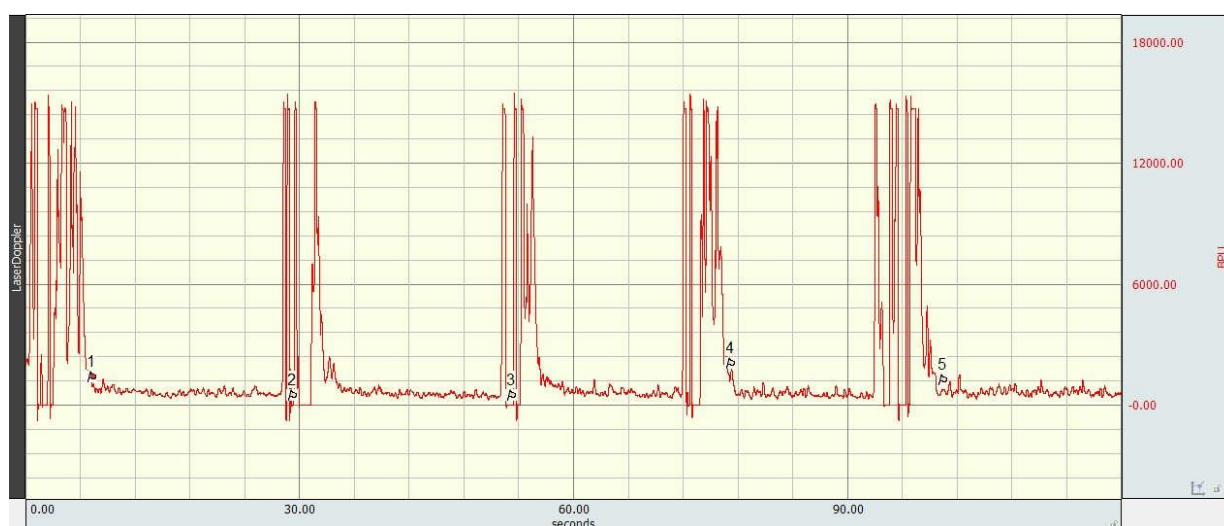
Моделирование гипертензивной нейроретинопатии проводили путем ежедневного внутрибрюшинного введения неселективного ингибитора NO-синтаз L-NAME в дозе 12,5 мг/кг в течение 28 дней и повышения ВГД до 110 мм рт. ст. в течение 5 мин на 26 сутки эксперимента при оказании механического давления на переднюю камеру глаза.

В контрольной группе животным с внутрибрюшинно вводили 0,9% раствор NaCl в эквивалентном объеме в течение 28 суток.

Измерение уровня ретинальной микроциркуляции у крыс проводили методом ЛДФ с помощью программно-аппаратного комплекса Biopac-systems MP-150 и датчика игольчатого типа TSD-144

(США), программы AcqKnowledge 4.2. После введения животного в наркоз (раствор хлоралгидрата, 300 мг/кг) оценку уровня микроциркуляции проводили в десяти точках по окружности глаза, продолжительность записи в каждой точке составляла 20 секунд. Из значений уровня микроциркуляции в каждой точке выводили среднее, которое принимали за значение уровня ретинальной микроциркуляции у данного экспериментального животного. Значение уровня микроциркуляции в группе крыс рассчитывали как среднее из значений, полученных у каждого животного в группе [12].

ЛДФ позволяет оценить перфузионные параметры микроциркуляции. Зондирующее лазерное излучение позволяет получить отраженный сигнал из слоя ткани толщиной до 1 мм, объем зондируемой ткани составляет 1 мм³ [13]. Общая толщина склеры, сосудистой оболочки глаза и сетчатки у крысы составляет менее 0,5 мм, использование контактной методики ЛДФ позволяет оценить уровень микроциркуляции по всей глубине зондируемой области [14, 15]. Общий вид регистрируемой кривой изображен на рисунке 1.



Примечание: «артефакты» между точками связаны со сканированием воздуха при переходе от одной точки к другой.

Note: "artifacts" between points are related to air scanning when moving from one point to another.

Рис. 1. Общий вид графика регистрации уровня ретинальной микроциркуляции у крысы Wistar
Fig. 1. General view of the chart of retinal microcirculation level registration in Wistar

Оценку клинического течения гипертензивной нейроретинопатии проводили на 29 день эксперимента методом семантического дифференциала. С целью выяснения значимости того или иного признака проводилось анкетирование экспертов. Анкеты обрабатывали с учетом коэффициента компетентности экспертов.

При этом учитывались стаж работы, квалификационная категория и ученая степень (табл. 1).

На основе результатов вычислений были выявлены коэффициенты значимости ряда особенностей, характерных для моделируемого заболевания (табл. 2).

Таблица 1

Оценка компетентности экспертов

Table 1

Assessment of experts' competence

Критерий	Показатель	Ответ
Стаж работы	1 – 3 года	1
	3 – 5 лет	2
	5 – 10 лет	3
	Более 10 лет	4
Квалификационная категория	III	0
	II	1
	I	2
	Высшая	3
Ученая степень	Кандидат медицинских наук	1
	Доктор медицинских наук	2

Таблица 2

Признаки, характеризующие выраженность гипертензивной нейроретинопатии, и их коэффициенты значимости

Table 2

Signs characterizing the severity of hypertensive neuroretinopathy and their significance coefficients

Показатели выраженности гипертензивной нейроретинопатии	Коэффициент значимости
«Ватные» экссудаты	0,092
Кровоизлияния	0,109
Твёрдые экссудаты	0,122
Цвет ДЗН	0,135
Отек ДЗН	0,135
Новообразованные сосуды сетчатки	0,122

Математико-статистическая обработка данных показала, что между мнениями экспертов существует согласованность (коэффициент конкордантности = 0,895).

Составлены шкалы со степенью выраженности гипертензивной нейроретинопатии для каждого параметра, по которым проводили балльную оценку выявленных проявлений (табл. 3).

Таблица 3

Балльная оценка степени выраженности гипертензивной нейроретинопатии

Table 3

Assessment of the severity of neuroretinopathy hypertensive point

Качественная характеристика	Баллы и их характеристика		
«Ватные» экссудаты	1 – отсутствуют	2 – единичные	3 – множественные
Кровоизлияния	1 – отсутствуют	2 – точечные или штрихообразные	3 – округлые
Твёрдые экссудаты	1 – отсутствуют	2 – точечные депозиты	3 – массивные отложения
Цвет ДЗН	1 – розовый	2 – частичная деколорация	3 – тотальная деколорация
Отек ДЗН	1 – отсутствует	2 – незначительный	3 – ярко выраженный
Новообразованные сосуды сетчатки	1 – отсутствуют	2 – единичные	3 – множественные

Результаты и их обсуждение.

Результаты измерения уровня ретинальной

микроциркуляции в экспериментальных группах представлены в таблице 4.

Таблица 4

Влияние производного DMAE 7-16, карбамилированного дарбэпоэтина, C7070 и пикамилона на уровень ретинальной микроциркуляции при коррекции гипертензивной нейроретинопатии ($M \pm m$; $n=10$), п.е.

Table 4

Effect of DMAE derivative 7-16, carbamylated darbepoetin, C7070 and picamilon on the level of retinal microcirculation in correction of hypertensive neuroretinopathy ($M \pm m$; $n=10$), p.u.

№ п/п	Экспериментальные группы	Уровень микроциркуляции
1	Контроль	$743,6 \pm 20,9^y$
2	Гипертензивная нейроретинопатия	$417,2 \pm 13,1^*$
3	Коррекция производным DMAE 7-16, 12,5 мг/кг	$600,4 \pm 10,5^{*y}$
4	Коррекция производным DMAE 7-16, 25 мг/кг	$709,7 \pm 14,1^y$
5	Коррекция C7070, 50 мг/кг	$715,4 \pm 12,5^y$
6	Коррекция карбамилированным дарбэпоэтином, 300 мкг/кг	$592,4 \pm 9,6^{*y}$
7	Коррекция пикамилоном, 30 мг/кг	$611,2 \pm 11,3^{*y}$

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой; y – $p < 0,05$ в сравнении с группой с гипертензивной нейроретинопатией.

Note: * – $p < 0.05$ compared to the control group; y – $p < 0.05$ compared to the group with hypertensive neuroretinopathy.

В группе с моделью патологии уровень микроциркуляции меньше значения в группе контроля в среднем на 44% ($p<0,05$). На фоне коррекции производным DMAE 7-16 в дозе 12,5 мг/кг данный показатель в сетчатке возрастает на 44% ($p<0,05$ в сравнении с группой без коррекции) и достоверно отличается от значения в группе контроля. При коррекции производным DMAE 7-16 в дозе 25 мг/кг показатель возрастает на 70% по сравнению со значением в группе с патологией ($p<0,05$) и достоверно не отличается от значения нормы. На фоне коррекции C7070 в дозе 50 мг/кг уровень микроциркуляции в сетчатке возрастает на 71% ($p<0,05$ в сравнении с группой без коррекции) и достигает целевых значений. В группе с коррекцией карбамилированным дарбэпозтином данный показатель достоверно возрастает на 41,9%, $p<0,05$ в сравнении с группой без коррекции, но также отличается от значений нормы ($p<0,05$). На фоне коррекции пикамилоном в дозе 30 мг/кг уровень микроциркуляции возрастает на 47% по сравнению со значением в группе без коррекции ($p<0,05$), но также отличается от значения в контрольной группе ($p<0,05$), что не позволяет говорить об эффективном восстановлении микроциркуляции в сетчатке.

Таким образом, наиболее эффективная коррекция микроциркуляции в сетчатке характерна для производного DMAE 7-16 в дозе 25 мг/кг и C7070 в дозе 50 мг/кг, что превосходит среднее значение уровня микроциркуляции в группе с коррекцией пикамилоном и сопоставима со средним значением в контрольной группе. В группах с коррекцией производным DMAE 7-16 в дозе 12,5 мг/кг и карбамилированным дарбэпозтином в дозе 300 мкг/кг не

достигаются целевые значения уровня микроциркуляции в сетчатке.

На 29 день эксперимента в группе с моделью гипертензивной нейроретинопатии на глазном дне наблюдались множественные «ватные» экссудаты, точечные и штрихообразные кровоизлияния, точечные включения твердого экссудата, частичная деколорация ДЗН, ярко выраженный отек ДЗН, неоваскуляризация сосудов сетчатки.

На фоне коррекции производным DMAE 7-16 в дозе 12,5 мг/кг «ватные», твердые экссудаты и кровоизлияния отсутствовали, наблюдалась частичная деколорация ДЗН, его незначительный отек, новообразованные сосуды сетчатки не наблюдались.

На фоне введения производного DMAE 7-16 в дозе 25 мг/кг на глазном дне не фиксировались «ватные», твердые экссудаты и кровоизлияния, сохранялась частичная деколорация ДЗН; отек ДЗН и образование новых сосудов сетчатки не наблюдались.

В группах с коррекцией субстанцией C7070, карбамилированным дарбэпозтином и пикамилоном наблюдалась картина глазного дна, в основном, не отличающаяся от нормы (табл. 5).

Таким образом, по результатам балльной оценки клинического течения гипертензивной нейроретинопатии на 29 день эксперимента в группах с введением субстанции C7070, карбамилированного дарбэпозтина и пикамилона зафиксировано возвращение анализируемых параметров глазного дна к норме. При введении производного DMAE 7-16 в дозе 12,5 мг/кг сохраняются изменения ДЗН (отек и частичная деколорация); в дозе 25 мг/кг отек не наблюдается.

Таблица 5

Оценка выраженности гипертензивной нейроретинопатии методом семантического дифференциала на фоне коррекции производным DMAE 7-16, карбамилированным дарбэпоэтином, C7070 и пикамилоном (баллы)

Table 5

Assessment of the hypertensive neuroretinopathy severity by the semantic differential method in correction by DMAE derivative 7-16, carbamilated darbepoetin, C7070 and picamilon (points)

Параметр	«Ватные» экссудаты		Кровоизл ияния		Твёрдые экссудаты		Цвет ДЗН		Отек ДЗН		Новообра зованные сосуды		Итого
Коэффици- ент	0,092		0,109		0,122		0,135		0,135		0,122		
Экспери- ментальные группы	Б	С	Б	С	Б	С	Б	С	Б	С	Б	С	
Контроль	1	0,092	1	0,109	1	0,122	1	0,135	1	0,135	1	0,122	0,715
Гипертен- зивная нейроре- тинопатия	3	0,276	2	0,218	2	0,244	2	0,270	3	0,405	2	0,244	1,657
Производ- ное DMAE 7-16, 12.5 мг/кг	1	0,092	1	0,109	1	0,122	2	0,270	2	0,270	1	0,122	0,985
Производ- ное DMAE 7-16, 25 мг/кг	1	0,092	1	0,109	1	0,122	2	0,270	1	0,135	1	0,122	0,850
C7070, 50 мг/кг	1	0,092	1	0,109	1	0,122	1	0,135	1	0,135	1	0,122	0,715
Карбамили рованный дарбэпоэти н, 300 мкг/кг	1	0,092	1	0,109	1	0,122	1	0,135	1	0,135	1	0,122	0,715
Пикамилон, 30 мг/кг	1	0,092	1	0,109	1	0,122	1	0,135	1	0,135	1	0,122	0,715

Примечание: Б – баллы; С – сумма.

Note: Б – points; С – amount.

В экспериментальном исследовании установлена ретинопротекторная активность производного DMAE 7-16, что может служить основанием для проведения пилотных клинических исследований у больных с гипертензивной нейроретинопатией. Сегмент глазных лекарственных средств для лечения болезней сосудистой оболочки глаза как

осложнений артериальной гипертензии, атеросклероза, сахарного диабета целесообразно расширять вследствие роста заболеваемости данными системными патологиями и отсутствия средств для направленной коррекции ишемических повреждений сосудистой оболочки глаза [16]. В настоящее время за рубежом активно проводятся исследования гипертензивной

ретинопатии как детерминанты повреждения органов-мишеней при артериальной гипертензии [17, 18, 19]. Изменения органа зрения при повышенном артериальном давлении (АД) занимают особое место [20]. Очевидными становятся перспективы оптимизации фармакотерапии состояний, сопровождающихся повышением артериального давления и приводящих к развитию гипертензивной ретинопатии.

Заключение. Наиболее эффективная коррекция гипертензивной нейроретинопатии на крысах Wistar выявлена у производного DMAE 7-16 в дозе 25 мг/кг и C7070 в дозе 50 мг/кг, превосходящая препарат сравнения пикамилон, что подтверждается измерением уровня микроциркуляции в сетчатке и результатами оценки клинического течения гипертензивной нейроретинопатии на фоне коррекции исследуемыми фармакологическими средствами.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Das B. Is the sarcolemmal or mitochondrial K (ATP) channel activation important in the antiarrhythmic and cardioprotective effects during acute ischemia/reperfusion in the intact anesthetized rabbit model? // Life Sci. 2005 Jul 29. Vol. 77(11). P. 1226-1248. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.12.042>
2. Pharmacological preconditioning by recombinant erythropoietin as the possibility of increasing the stability of tissue of the retina to reperfusion ischemia in experiment / A.S. Shabelnikova [et al.] // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2016. Vol. 2, N 1(2). P. 25-29. DOI: 10.18413/2313-8971-2016-2-1-25-29
3. Степушина О.А. Сочетанное использование калибromетрии сосудов сетчатки, адаптивной оптики и флюоресцентной ангиографии в ранней диагностике и мониторинге диабетической ангиоретинопатии и гипертонической ангиопатии // Вестник офтальмологии. 2011. N 2. С. 29.
4. Konstantinidis L. Hypertension and the eye // Curr Opin Ophthalmol. 2016. Vol. 27(6). P. 514-521. DOI: 10.1097 / ICU.0000000000000307
5. Швецова Н.Е. Изучение воздействия препарата Селекартен на сетчатку: экспериментальное исследование: дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2008. 157 с.
6. Hypertensive retinopathy an overview / Khurana A.R [et al.] // Haryana J. Ophthalmol. 2014. Vol. VII. P. 64-66.
7. Имшенецкая Т. Диабетическая ретинопатия [Электронный ресурс] // Медицинский вестник. 2009. URL: http://www.medvestnik.by/ru/sovremennii_podkhod/view/diabeticheskaja-retinopatija-6710-2009/ (дата обращения: 16.09.2018).
8. Офтальмология: 2006: клинические рекомендации / Л. К. Мошетова [и др.] // Межрегион. ассоц. офтальмологов России. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2006. С. 242.
9. Способ лечения и профилактики глазных болезней, связанных с ишемией тканей глаз / П. В. Макаров [и др.] // Бюллетень. N 3. 12 с.
10. Фармакология: химиотерапевтические лекарственные средства / Т.А. Бережнова [и др.] // Рабочая тетрадь для самостоятельной работы студентов, обучающихся по специальности "Медико-профилактическое дело". Воронеж, 2016.
11. Correction of retinal angiopathy of hypertensive type by minoxidil, sildenafil in experiment / A.A. Peresyphkina [et al.] // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2016. Vol. 2(4). P. 34-44. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-4-34-44.
12. Электрофизиологические и гистоморфометрические изменения в сетчатке крыс при фармакологическом preconditionировании эритропоезином, никорандилом на модели ишемии-реперфузии глаза / А.А. Пересыпкина [и др.] // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. 2014. Вып. 26/1, N 11(182). С. 113-117.
13. Саркисов К.Г. Лазерная доплеровская флоуметрия как метод оценки состояния кровотока в микрососудах // Методология флоуметрии: сб. ст. М., 1999. С. 9-14.
14. Quantitative mapping of scleral fiber orientation in normal rat eyes / M.J. Girard [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2011. Vol. 52(13). P. 968-49693. DOI: 10.1167 / iovs.11-7894
15. Structural and functional MRI reveals multiple retinal layers / H. Cheng [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. Vol. 103(46). P. 17525-17530. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0605790103>

16. Анализ российского оптового рынка глазных капель за 2006 – 1–3 кв. 2012 гг. / А.А. Арустамова [и др.] // Российский медико-биологический вестник им. акад. И. П. Павлова. 2013. N 4. С. 71-76.

17. Evaluation of target organ damage in arterial hypertension: which role for qualitative funduscopic examination? / C. Cuspidi [et al.] // Ital Heart J. 2001. Vol. 2(9). P. 702-706.

18. Prevalence and correlates of advanced retinopathy in a large selected hypertensive population. The Evaluation of Target Organ Damage in Hypertension (ETODH) study / C. Cuspidi [et al.] // Blood Press. 2005; 14(1): 25-31. DOI: 10.1080/08037050510008805

19. Consideration of hypertensive retinopathy as an important end-organ damage in patients with hypertension / S.A. Kolman [et al.] // J Hum Hypertens. 2017. Vol. 31(2). P. 121-125. DOI: 10.1038/jhh.2016.49

20. Wong T.Y., Mitchell P. Hypertensive retinopathy. N Engl J Med. 2004. N 351. P. 2310-2317. DOI: 10.1056/NEJMra032865

References

1. Das B. Is the sarcolemmal or mitochondrial K (ATP) channel activation important in the antiarrhythmic and cardioprotective effects during acute ischemia/reperfusion in the intact anesthetized rabbit model? Life Sci. 2005;29;77(11):1226-1248. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.12.042>

2. Shabelnikova AS, Peresypkina AA, Gubareva VO, et al. Pharmacological preconditioning by recombinant erythropoietin as the possibility of increasing the stability of tissue of the retina to reperfusion ischemia in experiment. Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2016;2(1(2)):25-29. DOI: 10.18413/2313-8971-2016-2-1-25-29

3. Stepushina OA. [Combined use of retinal vessel calibrometry, adaptive optics and fluorescence angiography in early diagnostics and monitoring of diabetic angioretinopathy and hypertensive angiopathy]. Vestnik oftal'mologii. 2011;2:29. Russian.

4. Konstantinidis L. Hypertension and the eye. Curr Opin Ophthalmol. 2016;27(6):514-521. DOI: 10.1097/ICU.0000000000000307

5. Shvetsova NE. [A study of the effects of the drug Selektarten on the retina: an experimental study] [dissertation]. Moscow; 2008. 157 p. Russian.

6. Khurana AR, Khurana B, Chauhan S, et al. Hypertensive retinopathy an overview. Haryana J. Ophthalmol. 2014;7:64-66..

7. Imshenetskaya T. [Diabetic retinopathy]. Medical Bulletin. [Internet]. 2009 May 7 [cited 2018 Sept 16]. Available from: http://www.medvestnik.by/ru/sovremennii_podxod/view/diabeticheskaja-retinopatija-6710-2009/ Russian.

8. Moshetova LK, Nesterov AP, Yegorov E.A. Ophthalmology: 2006: guideline. Mezhtregion. Assoc. ophthalmologists of Russia. Moscow: GEOTAR-Media; 2006. 242 p. Russian.

9. Makarov PV. The method of treatment and prevention of eye diseases associated with eye tissue ischemia. Byulleten. 3:12. Russian.

10. Berezhnova TA, et al. [Pharmacology: chemotherapeutic drugs]. Working book for students of the specialty "Medical and preventive care". Voronezh; 2016. Russian.

11. Peresypkina AA, Gubareva VO, Levkova EA, et al. Correction of retinal angiopathy of hypertensive type by minoxidil, sildenafil in experiment. Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2016;2(4):34-44. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-4-34-44.

12. Peresypkina AA, Pokrovsky MV, Shabelnikova AS, et al. [Electrophysiological and histomorphometric changes in the retina of rats under pharmacological preconditioning erythropoietin, nicorandil on the model of ischemia-reperfusion eyes]. Scientific statement BSU. Ser. Medicine. Pharmacy. 2014;11(182):113-117. Russian.

13. Sarkisov KG. [Laser Doppler flowmetry as a method for assessing the state of blood flow in microvessels]. In: Methodology of flowmetry. Moscow; 1999:9-14. Russian.

14. Girard MJ, Dahlmann-Noor A, Rayapureddi S, et al. Quantitative mapping of scleral fiber orientation in normal rat eyes. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2011;52(13):968-49693. DOI: 10.1167 / iovs.11-7894

15. Cheng H, Nair G, Walker TA, et al. Structural and functional MRI reveals multiple retinal layers. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006;103(46):17525-17530. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0605790103>

16. Arustamova AA, Pokrovsky MV, Shabelnikova AS, et al. Analysis of the Russian wholesale market of eye drops for the period of 2006-1-3 sq. 2012. Russian medical and biological Bulletin. Akad. I.P. Pavlov. 2013;4:71-76. Russian.

17. Cuspidi C, Macca G, Salerno M, et al. Evaluation of target organ damage in arterial

hypertension: which role for qualitative funduscopic examination? Ital Heart J. 2001;2(9):702-706.

18. Cuspidi C, Meani S, Valerio C, et al. Prevalence and correlates of advanced retinopathy in a large selected hypertensive population. The Evaluation of Target Organ Damage in Hypertension (ETODH) study. Blood Press. 2005;14(1):25-31. DOI: 10.1080/08037050510008805

19. Kolman SA, van Sijl AM, van der Sluijs FA, et al. Consideration of hypertensive retinopathy as an important end-organ damage in patients with hypertension. J Hum Hypertens. 2017;31(2):121-125. DOI: 10.1038/jhh.2016.49

20. Wong TY, Mitchell P. Hypertensive retinopathy. N Engl J Med. 2004;351:2310-2317. DOI: 10.1056/NEJMr032865

Информация об авторах

Игорь Иванович Любимов, генеральный директор, ООО «Гурус БиоФарм», ORCID: 0000-0002-0057-8537.

Виктория Олеговна Губарева, научный сотрудник, ООО «Гурус БиоФарм», E-mail: VikaZ@rambler.ru, ORCID: 0000-0001-6380-4055.

Information about the authors

Igor I. Lyubimov, General Director, Gurus BioPharm Ltd., ORCID: 0000-0002-0057-8537.

Viktoriya O. Gubareva, Researcher, Gurus BioPharm Ltd., E-mail: VikaZ@rambler.ru, ORCID: 0000-0001-6380-4055.

Статья поступила в редакцию 27 сентября 2018 г.

Receipt date 2018 September 27.

Статья принята к публикации 19 декабря 2018 г.

Accepted for publication 2018 December 19.



УДК: 616.37-002.1-085

DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-5

П.К. Микаелян,
А.Л. Локтионов,
Н.А. Быстрова,
П.М. Назаренко

Фармакологическая коррекция иммунных и метаболических нарушений при остром билиарном панкреатите различной степени тяжести

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Курский государственный медицинский университет»,
ул. К. Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Российская Федерация
Автор для переписки: П.К. Микаелян (paul_keropoff@mail.ru)

Аннотация

Актуальность: Частота встречаемости острого панкреатита до 40 случаев в год на 100,000 взрослого населения, в составе которых около 10-15% больных с тяжелыми формами этого заболевания, летальность среди которых достигает до 80%.
Цель исследования: Установить фармакологическую эффективность комбинированного применения иммуномодуляторов, антиоксидантов и мембранопротекторов при остром билиарном панкреатите различной степени тяжести в эксперименте и клинике.
Материалы и методы: Острый панкреатит моделировали у крыс Вистар. До и после введения комбинаций препаратов проводили оценку показателей иммунного статуса, параметров оксидантной системы. Клинически обследовано и пролечено 72 пациента Курской городской больницы №4, у которых применяли малоинвазивные хирургические методы в сочетании с фармакотерапией комбинацией полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н. В крови оценивали содержание цитокинов, показателей системы комплемента, оксидантной системы.
Результаты: Экспериментально установлено, что в отношении легкой формы острого панкреатита изменения полностью корректируются комбинациями ферровира, мексидола и фосфоглива или полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н, а при средней и тяжелой степени тяжести наблюдаются выраженные иммунометаболические нарушения, недостаточно эффективно корректируемые предложенными комбинациями. Клинически при легкой, в меньшей степени при среднетяжелой форме острого билиарного панкреатита, доказана большая фармакологическая эффективность применения сочетания полиоксидоний, эмоксипин и эссенциале Н.
Заключение: Комбинация полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н при экспериментальном остром панкреатите различной степени тяжести в коррекции иммунных и метаболических нарушений оказалась наиболее эффективной. У больных острым панкреатитом билиарной этиологии легкой степени, в большей степени при средней степени тяжести, в плазме обнаружено повышение уровня про-, противовоспалительных цитокинов, метаболической активности нейтрофилов периферической крови, активация процессов перекисного окисления липидов, снижение содержания С₃- и С₄-компонентов комплемента, фагоцитарной активности нейтрофилов крови. При средней степени тяжести установлено дальнейшее повышение содержания IL-10, активности супероксиддисмутазы, каталазы, снижение уровней IL-2, IL-1Ra. Включение в лечение больных острым панкреатитом билиарной этиологии легкой степени тяжести сочетания полиоксидония, эмоксипина с эссенциале Н полностью нормализует изменения иммунных и оксидант-

ных показателей. При средней степени тяжести используемая схема корректирует суммарно 78,4% лабораторных иммунометаболических параметров.

Ключевые слова: острый билиарный панкреатит; иммунные нарушения; оксидантные нарушения; иммуномодуляторы; антиоксиданты; мембранопротекторы.

Информация для цитирования: Фармакологическая коррекция иммунных и метаболических нарушений при остром билиарном панкреатите различной степени тяжести / П.К. Микаелян [и др.] // Научные результаты биомедицинских исследований. 2019. Т. 5, № 1. С. 63-83 [Mikaelyan PK, Loktionov AL, Bystrova NA. Pharmacological correction of immune and metabolic disorders in acute biliary pancreatitis of varying severity. Research Results in Biomedicine. 2019;5(1):63-83 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-5

Pavel K. Mikaelyan,
Alexey L. Loktionov,
Natalya A. Bystrova,
Peter M. Nazarenko

**Pharmacological correction of immune and metabolic disorders
in acute biliary pancreatitis of varying severity**

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

Corresponding author: Pavel K. Mikaelyan (paul_keropoff@mail.ru)

Abstract

Background: The incidence of acute pancreatitis is up to 40 cases per 100,000 adult population per year, including about 10-15% of patients with severe forms of this disease, and mortality reaching up to 80%. **The aim of the study:** to establish the pharmacological effectiveness of the combined use of immunomodulators, antioxidants and membrane protectors in acute biliary pancreatitis of varying severity in the experiment and clinic. **Materials and methods:** Acute pancreatitis was modeled in Wistar rats. Before and after the introduction of combinations of drugs, indicators of the immune status and parameters of the oxidative system were evaluated. 72 patients of Kursk City Hospital No. 4 were clinically examined and treated with minimally invasive surgical methods in combination with pharmacotherapy, using Polyoxidonium, Emoxipine and Essentiale N. The blood levels of cytokines, complement system parameters, and oxidant system were evaluated. **Results:** It was experimentally established that in relation to the mild form of acute pancreatitis, the changes were completely corrected by combinations of Ferrovir, Mexidol and Phosphogliv or Polyoxidonium, Emoxipine and Essentiale N, and with medium and high severity, pronounced immunometabolic disturbances were observed, which were not effectively corrected with the proposed combinations. Clinically, with mild, to a lesser extent, with a medium form of acute biliary pancreatitis, a more pronounced pharmacological efficacy of a combination of Polyoxidonium, Emoxipine and Essentiale N. was observed. **Conclusion:** The combination of Polyoxidonium, Emoxipine and Essentiale N in experimental acute pancreatitis of varying severity in the correction of immune and metabolic disorders was most effective. In patients with acute pancreatitis of biliary etiology of mild, to a greater extent with medium severity, in plasma, there was found an increase in the level of pro-, anti-inflammatory cytokines, metabolic activity of peripheral blood neutrophils, activation of lipid peroxidation, a decrease in the content of C3-and C4-complement components, phagocytic activity of blood neutrophils. In a medium degree of severity, a further increase in the con-

tent of IL-10, the activity of superoxide dismutase, catalase, a decrease in the levels of IL-2, IL-1Ra were observed. The inclusion in the treatment of patients with acute pancreatitis of biliary etiology of mild severity of a combination of polyoxidonium, emoxypine with Essentiale N has completely normalized changes in immune and oxidant parameters. In the medium severity the used scheme has corrected totally 78.4% of the laboratory immunometabolic parameters.

Keywords: acute biliary pancreatitis; immune disorders; oxidative disorders; immunomodulators; antioxidants; membrane protectors

Введение. Частота встречаемости ОП до 40 случаев в год на 100,000 взрослого населения, в составе которых около 10-15% больных с тяжелыми формами этого заболевания. Летальность от ОП колеблется на уровне 30%, в то же время при тяжелых случаях может составлять до 80% от числа заболевших. Очевиден тот факт, что ОП является результатом воздействия повреждающих факторов и взаимодействия местных и системных адаптивных реакций организма со стороны иммунной, нервной и эндокринной систем. При этом, происходящие иммунометаболические сдвиги трудно охарактеризовать, анализируя только модели ОП на животных, либо оценивая иммунные и метаболические показатели у больных. Однако экспериментальные исследования предполагают, что прогноз ОП напрямую зависит от степени некроза поджелудочной железы, интенсивности мультисистемной органной недостаточности, обусловленной ССВО. Наибольшее число летальных исходов наблюдается в ранней фазе заболевания, в связи с развитием панкреатогенного шока, и в поздней фазе заболевания, в связи с развитием гнойных осложнений. В этой связи, основу фармакотерапии ОП должно составлять не только понимание его патогенетических механизмов, но и своевременная профилактика развития тяжелых, осложненных форм, связанных либо с избыточной активацией, либо с недостаточностью иммунной системы, формированием в месте воспаления метаболитов, обладающих различными эффектами на регуляторные системы организма [1-4].

В настоящее время среди факторов, обуславливающих прогрессирование и утяжеление ОП авторы выделяют следующие. Первичные – ферменты поджелудочной железы (трипсин, химотрипсин, фосфолипазу-

А₂, липазу, и т.д.). Вторичные – ферменты поджелудочной железы, активирующие калликреин-кининовую систему с образованием брадикинина, гистамина, серотонина, которые увеличивают сосудистую проницаемость, вызывают нарушения микроциркуляции, отек, микротромбозы, ишемию, гипоксию и ацидоз тканей. Третичные – макрофаги, мононуклеарные клетки и нейтрофилы, которые при развитии ССВО и гипоксии продуцируют провоспалительные цитокины (IL-1, IL-6 и IL-8, TNF), фактор активации тромбоцитов, простагландины, тромбоксан, лейкотриены, оксид азота. Факторы агрессии четвертого порядка – цитокины, тканевые ферменты, метаболиты, измененные в результате патологического процесса различной природы. Очевидно, что факторы агрессии третьего и четвертого порядка в основном являются продуктами клеток иммунной системы [5-8].

Одним из недостаточно изученных направлений фармакотерапии ОП является сочетанное применение иммуномодулирующей, мембранопротекторной и антиоксидантной фармакотерапии при различных по степени тяжести и этиологии формах этого заболевания. Показаниями для применения этих препаратов при ОП являются сдвиги иммунного статуса и оксидантной системы, на которые указывают многие авторы, в особенности при тяжелых формах ОП. Надо отметить, что и другие вопросы фармакотерапии ОП являются дискуссионными и требуют дополнительных методов изучения, поскольку при легких формах ОП некоторые авторы считают нецелесообразным проведение иммуномодулирующей, антиоксидантной и мембранопротекторной терапии. Кроме того, необходим пересмотр некоторых аспектов алгоритма диагностики и лечения ОП билиарной этиологии, с воз-

можной его модификацией за счет включения в фармакотерапевтический комплекс указанных групп лекарственных средств и их комбинаций как для профилактики ранних, обусловленных ферментемией, так и поздних или инфекционных осложнений ОП [9-13].

Цель работы – установить фармакологическую эффективность комбинированного применения иммуномодуляторов, антиоксидантов и мембранопротекторов при остром билиарном панкреатите различной степени тяжести в эксперименте и клинике.

Материалы и методы исследования. Опыты проведены на 148 здоровых половозрелых крысах Wistar, массой 215 ± 35 г. Для получения статистически значимых данных группы состояли из 18-20 животных. В контрольные и экспериментальные группы входили животные одного возраста, полученные из питомника РАМН «Столбовая». Все исследования проводили в одно и то же время суток, с 8.00 до 12.00 ч, 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.).

1 группа крыс не получала препараты, 2 – вводили на фоне экспериментального острого панкреатита комбинацию ферровира (20 мг/кг, внутримышечно, через 24 часа, №10), мескидола (50 мг/кг внутривентрально, через 24 часа, №10) и фосфоглифа (800 мг/кг перорально в 1% крахмальной суспензии, через 24 часа, №10), 3 группе – комбинацию полиоксидония (0,03 мг внутримышечно, через 24 часа, №10), эмоксипина (1 мл 1% раствора разводили в 20 мл 0,9% раствора натрия хлорида; 0,5 мл готового раствора вводили внутримышечно, через 24 часа, №10) и эссенциале Н (0,03 мл, внутривентрально, через 24 часа, №10).

Для моделирования различных по тяжести форм ОП были избраны дисциркуляторные методы. Для воспроизведения легкого ЭОП экспериментальным крысам проводили лапаротомию, затем, при помощи жидкого азота производили дозированное криогенное воздействие на одну из долей

поджелудочной железы при помощи специального аппликатора. Спустя 3 часа у 80% крыс развивался отечный ЭОП [14]. Последующий анализ результатов лабораторного обследования проводили только у тех животных, у которых по результатам патологоанатомического исследования имел место отечный ОП.

Моделирование среднетяжелой и тяжелой форм ЭОП осуществляли путем перевязки протока левой и правой доли панкреаса и трехкратной активацией прозерина через каждый час в дозе 0,2 мг/кг. При таком способе моделирования ОП морфологически наблюдалось развитие деструктивного панкреатита. Для того, чтобы добиться развития ОП средней степени тяжести производили перевязку только одного из протоков поджелудочной железы. В то время как для моделирования тяжелой формы деструктивного ЭОП производили перевязку двух имеющихся протоков поджелудочной железы с последующим введением прозерина. Моделирование ЭОП производили за 5 суток до забоя, поскольку в ранее проводимых исследованиях установлено наличие максимально выраженных изменений иммунного и оксидантного статусов на 5 сутки после моделирования ОП.

Всех крыс с ЭОП (легкой, средней и тяжелой степени тяжести) делили на 3 группы: 1 – без лечения 2 – с применением комбинации ферровира (20 мг/кг, в/м каждые 24 ч, №10), мескидола (50 мг/кг в/б каждые 24 часа, №10) и фосфоглифа (800 мг/кг п/о в 1% крахмальном растворе каждые 24 ч, №10) и 3 – с применением комбинации полиоксидония (0,03 мг в/м каждые 24 ч, №10), эмоксипина (1 мл 1% раствора в 20 мл 0,9% раствора натрия хлорида; 0,5 мл готового раствора вводили в/м каждые 24 ч, №10) и эссенциале Н (0,03 мл, в/б каждые 24 ч, №10). В качестве контроля исследовали лабораторные показатели у 15 здоровых крыс.

Иммунизацию крыс осуществляли введением в брюшную полость эритроцитов барана (ЭБ) из расчета 108 клеток на 1 кг массы. Через 5 дней после инициации определяли выраженность гуморального иммунного ответа (ГИО) по числу иммунных ан-

тителообразующих клеток (АОК) в селезенке. О выраженности гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) на ЭБ судили по разнице масс (PM) регионарного и контрлатерального лимфатических узлов через 24 часа после введения разрешающей дозы ЭБ. Иммунизацию или сенсибилизацию животных ЭБ проводили соответственно за 5 и 6 дней до выведения животных из эксперимента. Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови оценивалась по фагоцитарному показателю (ФП), фагоцитарному числу (ФЧ) и индексу активности фагоцитоза (ИАФ). Кислородзависимую активность оценивали фотометрически в реакции восстановления нитросинего тетразолия по показателям оптической плотности (mOD) в НСТ сп. (спонтанный НСТ-тест), НСТ ст. из (стимулированный неопсонизированным зимозаном НСТ-тест), НСТ ст. оз (стимулированный опсонизированным зимозаном НСТ-тест) и вычисляли коэффициенты функционального резерва – КАо (отношение опсонизированного НСТ-теста к спонтанной реакции), КАН (отношение неопсонизированного НСТ-теста к спонтанной реакции) и КО (соотношение опсонизированного и неопсонизированного НСТ-теста) [15]. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по концентрации в плазме ацилгидроперекисей (АГП) и малонового диальдегида (МДА). Для оценки состояния антиоксидантной системы определяли активность каталазы с применением готовых коммерческих наборов «Cayman Chemical» (США). Общую антиокислительную активность (ОАА), определяли методом, основанным на степени ингибирования аскорбат- и ферроиндуцированного окисления твина-80 до МДА. Уровень стабильных метаболитов оксида азота (СМ_{ОН}) по реакции Грисса с применением набора для твердофазного ИФА фирмы «R&D» (Англия). Регистрация всех результатов ИФА осуществлялась при помощи микропланшетного фотометра «Sunrise», Тесан (Австрия).

С 2006 по 2014 год в хирургическом отделении ОБУЗ «Курская городская клиническая больница №4» было обследовано 72 пациента в возрасте от 24 до 60 лет с раз-

личными степенью тяжести, формами и этиологией ОП, из которых в исследование были включены 28 пациентов с острым билиарным панкреатитом (ОБП) легкой степени, получавших консервативное лечение, без операции по поводу желчнокаменной болезни и ее осложнений, 22 больных с ОБП легкой степени, в лечении которых требовалось применение малоинвазивных хирургических методик и 22 пациента с ОБП средней степени тяжести, в комплексном лечении которых для купирования осложнений панкреонекроза, лечения желчнокаменной болезни также применяли только малоинвазивные хирургические методы.

Рандомизация больных с ОП проводилась по полу, возрасту, способу лечения, сопутствующей патологии, осложнениям, длительности и этиологии заболевания.

Базисное лечение больных с различными по степени тяжести формами ОБП проводили в соответствии с утвержденными в 2015 году на Всероссийском съезде хирургов национальными клиническими рекомендациями. Лекарственная терапия, состоящая из комбинации иммуномодулятора, антиоксиданта и мембранопротектора проводилась по дополнительным показаниям, выявленным после оценки иммунных и метаболических изменений у обследуемых лиц. Обе группы больных с ОБП легкой и средней степени тяжести были разделены на 2 подгруппы, одну из которых лечили согласно национальным клиническим рекомендациям, во второй дополнительно применяли сочетание полиоксидоний (6 мг в/в капельно на 200 мл 5% раствора глюкозы каждые 48 ч, №5), эмоксипин (3% – 30 мл, в/в капельно на 400 мл 0,9% раствора натрия хлорида каждые 24 ч, №10), эссенциале Н (10 мл, 500 мг, в/в капельно на 200 мл 5% раствора каждые 24 ч, №10).

Лабораторные методы исследования крови осуществлялись по стандартной методике. Изучение иммунометаболических показателей проводили в плазме крови. Уровень TNF, IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-18, G-KCФ, IF α , IF γ , IL-4, IL-10, IL-1Ra, C₃, C₄-компонентов системы комплемента, фактора Н и С₁-ингибитора, определяли с помощью наборов реагентов ЗАО «Вектор Бест»

(г. Новосибирск) и ООО «Протеиновый контур» (г. Санкт-Петербург) методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

Активность и интенсивность фагоцитоза нейтрофилов, выделенных из периферической крови, оценивали по фагоцитарному индексу, фагоцитарному числу и индексу активности фагоцитоза. Активность кислородзависимых систем нейтрофилов оценивали по реакции восстановления нитросинего тетразолия, спонтанного и стимулированного зимозаном с расчетом функционального резерва нейтрофилов. Для оценки состояния антиоксидантной системы определяли активность супероксиддисмутазы (СОД) «Bender Medsystems» (Австрия) и каталазы «Cayman Chemical» (США). Регистрация всех результатов ИФА осуществлялась при помощи микропланшетного фотометра «Sunrise», Tecan (Австрия).

В экспериментальных исследованиях достоверность наблюдавшихся при действии исследованных препаратов изменений параметров, как абсолютных, так и в процентах от исходного уровня, определяли разностным методом описательной статистики с нахождением средних значений сдвигов (M), средней ошибки средней арифметической ($\pm m$) и вероятности возможной ошибки (p), рассчитанной с использованием t -test для групп с различной дисперсией. Различия оценивали, как достоверные, при $p=0,05$. Для расчетов использовали программу для статистического анализа Microsoft Excel 7.0.

В клинических исследованиях статистическую обработку результатов исследования у пациентов, страдающих ОП и существенность различий производили по U -критерию [16]. Статистически значимыми считали различия с $p=0,05$. Кроме того, определялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Степень расстройств для некоторых лабораторных показателей, коэффициент диагностической ценности, формулу расстройств рассчитывали по формулам А.М. Земскова и др. (2008). Для каждой схемы лечения вычисляли собственные корригирующие эффекты препарата, а затем – сумму показателей степеней коррекции [17].

Результаты и их обсуждение. Экспериментальные исследования, проведенные на крысах Вистар, позволили установить,

что у животных с легкой степенью тяжести ЭОП установлена супрессия формирования гуморальной (снижение иммунных АОК в селезенке) и клеточной форм иммунного ответа (снижение РК и РМ регионарного и контралатерального лимфатических узлов). Отмечалось также угнетение показателей фагоцитарной с одновременным повышением кислородзависимой активности полиморфоядерных лейкоцитов периферической крови (в НСТ-тестах спонтанном и стимулированном неопсонизированным и опсонизированным зимозаном, коэффициентов КАН, КАо) (таблица 1).

Ряд работ, проведенных другими авторами указывали, что метаболические нарушения имеют место только при деструктивных формах ОП [18]. Однако настоящая работа позволяет утверждать, что метаболические нарушения различной степени тяжести наблюдаются в том числе уже при легкой форме ЭОП. Обнаружена активация процессов перекисного окисления липидов (повышение МДА и АГП), незначительное повышение CM_{NO} при отсутствии изменений активности каталазы и ОАА (таблица 1).

В качестве сочетаний иммуномодулятора, мембранопротектора и антиоксиданта были избраны препараты, имеющие эффективный опыт в эксперименте и клинике при различных заболеваниях гепатопанкреатобилиарной системы, первая из таких комбинаций – ферровир, мексидол, фосфоглив, вторая – полиоксидоний, эмоксипин и эссенциале Н [2].

Применение у животных с легким ЭОП ферровира, мексидола и фосфоглива нормализовало развитие гуморальной, корригировало (но не до уровня интактных) формирование клеточной (РМ, РК) формы иммунного ответа, полностью нормализовало функциональную активность нейтрофилов периферической крови и оксидантные показатели (таблица 1).

Применение полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н нормализовало параметры гуморальной и клеточной форм иммунного ответа, функциональную активность гранулоцитов периферической крови, оксидантные показатели, содержание CM_{NO} (таблица 1).

Таблица 1

Иммуномодулирующая и мембранопротекторная терапия экспериментального острого панкреатита легкой степени тяжести

Table 1

Immunomodulatory and membrane-protective therapy of experimental acute pancreatitis of mild severity

Показатель	Единицы измерения	1	2	3	4
		Контрольная группа	ЭОП легкой степени тяжести		
			Без препаратов	Ферровир + мексидол + фосфоглив	Полиоксидоний + эмоксипин + эссенциале Н
АОК	тыс./селезен.	26,4±2,1	8,2±1,5 ^{*1}	27,2±0,7 ^{*2}	26,0±1,1 ^{*2}
РМ	Мг	2,43±0,02	0,43±0,03 ^{*1}	1,56±0,02 ^{*1,2}	2,47±0,01 ^{*2}
РК	10 ⁶ лимфоцитов	1,81±0,03	0,51±0,05 ^{*1}	1,03±0,13 ^{*1,2}	1,93±0,05 ^{*2}
ФП	%	77,5±2,6	63,3±2,3 ^{*1}	66,2±1,4 ^{*1}	79,1±2,2 ^{*2}
ФЧ	абс.	2,18±0,03	1,8±0,09 ^{*1}	1,99±0,19 ^{*2}	2,31±0,09 ^{*2}
ИАФ	—	1,62±0,09	1,14±0,04 ^{*1}	1,31±0,23 ^{*2}	1,82±0,23 ^{*2}
НСТ-сп.	mOD	0,85±0,04	1,2±0,03 ^{*1}	0,81±0,05 ^{*2}	0,91±0,06 ^{*2}
НСТ-ст. н/з	mOD	1,31±0,03	2,6±0,02 ^{*1}	1,26±0,07 ^{*2}	1,38±0,05 ^{*2}
НСТ-ст. о/з	mOD	1,6±0,07	2,7±0,06 ^{*1}	1,55±0,04 ^{*2}	1,7±0,08 ^{*2}
КАн	—	1,54±0,02	2,17±0,03 ^{*1}	1,55±0,01 ^{*2}	1,51±0,01 ^{*2}
КАо	—	1,88±0,01	2,25±0,07 ^{*1}	1,91±0,03 ^{*2}	1,86±0,02 ^{*2}
КО	—	1,22±0,03	1,03±0,02 ^{*1}	1,23±0,03 ^{*2}	1,23±0,02 ^{*2}
АГП	усл. ед.	0,37±0,03	0,46±0,03 ^{*1}	0,25±0,06 ^{*2}	0,35±0,04 ^{*2}
МДА	мкмоль/л	1,76±0,07	4,86±0,02 ^{*1}	1,71±0,02 ^{*2}	1,69±0,01 ^{*2}
Каталаза	мкат/л	12,1±0,31	11,9±0,21	12,6±0,08	11,6±0,18
ОАА	%	47,9±0,55	48,1±0,65	41,5±0,06	47,6±0,56
СМ _{NO}	мкмоль/л	1,75±0,09	2,77±0,04 ^{*1}	1,89±0,12 ^{*2}	1,69±0,03 ^{*2}

При моделировании ЭОП средней степени тяжести у крыс обнаружено более выраженное, по сравнению с легкой формой ЭОП, снижение количества иммунных АОК в селезенке, РМ и РК регионарного и контралатерального лимфатических узлов, показателей фагоцитоза (ФП, ФЧ, ИАФ), повышение параметров кислородзависимой активности нейтрофилов периферической крови, одного из показателей функционального резерва нейтрофилов периферической крови – КАН, на фоне снижения коэффициента опсонизации (КО) и нормального функционального резерва на опсонизированный зимозан – КАо. Выявлена более выраженная активация процессов ПОЛ (повышение АГП, МДА), снижение активности каталазы, ОАА. Повышение концентрации стабильных метаболитов NO также позволяет предположить более значимую активацию процессов перекисного окисления липидов (таблица 2).

Сочетание ферровира, мексидола и фосфоглива нормализовало количество иммунных АОК в селезенке крыс, корригировало процессы фагоцитоза (ФП, ФЧ, ИАФ), содержание продуктов ПОЛ, активность каталазы, ОАА, повышало в плазме крови уровень $СМ_{NO}$, но не влияло на показатели, характеризующие клеточный иммунитет, кислородзависимую активность нейтрофилов периферической крови (таблица 2).

Комбинация полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н нормализовала число иммунных АОК в селезенке, показатели фагоцитоза, корригировало, но не до нормы РМ и РК регионарного и контралатерального лимфатических узлов, НСТ-ст. неопсонизированным зимозаном, содержание в плазме крови промежуточных и конечных продуктов перекисного окисления липидов, ОАА. При этом, имело место повышение резервов функциональной активности нейтрофилов периферической крови, судя по увеличению коэффициентов КАН и КАо,

повышалась активность каталазы и уровень стабильных метаболитов оксида азота (таблица 2).

В сравнении с другими экспериментальными группами при моделировании тяжелого ЭОП оказались максимально сниженными параметры адаптивных форм иммунного ответа (АОК, РМ и РК), фагоцитарной активности полиморфноядерных лейкоцитов крови, активности каталазы и ОАА, на фоне наиболее существенного повышения кислородзависимого метаболизма сегментоядерных клеток и интенсивности процессов перекисного окисления липидов. При этом, из всех коэффициентов активности гранулоцитов крови повышенным был только КАо, в связи со значительно разницей между НСТ-ст о/з и НСТ-сп. тестами (таблица 3).

Введение экспериментальным животным с тяжелой формой ЭОП ферровира, мексидола и фосфоглива не влияло на сниженные показатели гуморальной и клеточной форм иммунного ответа, титр продуктов ПОЛ, ОАА, корригировало параметры функциональной активности нейтрофилов периферической крови, активность каталазы, титр стабильных метаболитов NO в плазме (таблица 3).

Ни один из исследованных иммунных и окислительных показателей не удалось нормализовать при введении сочетания полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н. Применение этой комбинации при тяжелом ЭОП корригировало, но не до уровня нормы адаптивные формы иммунного ответа (АОК, РМ, РК), ФЧ, ИАФ, НСТ-сп. тест и стимулированные опсонизированным и неопсонизированным зимозаном, концентрацию МДА и АГП, активность каталазы, ОАА и уровень $СМ_{NO}$. При этом, позитивным, на наш взгляд сдвигом оказалось повышение резервов функциональной активности нейтрофилов периферической крови (КАо, КО) (таблица 3).

Таблица 2

Влияние комбинации полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н на иммунные и оксидантные показатели при экспериментальном остром панкреатите средней степени тяжести

Table 2

Effect of a combination of Polyoxidonium, Emoxipine and Essentiale H on immune and oxidant parameters in experimental acute pancreatitis of moderate severity

Показатель	Единицы измерения	1	2	3	4
		Контрольная группа	ЭОП средней степени тяжести		
			Без препаратов	Ферровир + мексидол + фосфоглив	Полиоксидоний+эмоксипин+эссенциале Н
АОК	тыс./селезен.	26,4±2,1	7,7±1,8 ^{*1}	26,2±1,1 ^{*2}	26,2±1,3 ^{*2}
РМ	мг	2,43±0,02	0,24±0,01 ^{*1}	0,51±0,04 ^{*1}	1,51±0,02 ^{*1,2}
РК	10 ⁶ лимфоцитов	1,81±0,03	0,11±0,03 ^{*1}	0,15±0,03 ^{*1}	0,71±0,06 ^{*1,2}
ФП	%	77,5±2,6	60,1±1,8 ^{*1}	67,1±2,2 ^{*1,2}	75,3±4,1 ^{*2,3}
ФЧ	абс.	2,18±0,03	1,4±0,18 ^{*1}	1,85±0,11 ^{*1,2}	2,35±0,21 ^{*2,3}
ИАФ	—	1,62±0,09	0,84±0,03 ^{*1}	1,24±0,02 ^{*1,2}	1,77±0,06 ^{*2,3}
НСТ-сп.	mOD	0,85±0,04	2,1±0,04 ^{*1}	2,13±0,15 ^{*1}	1,13±0,15 ^{*1-3}
НСТ-ст. н/з	mOD	1,31±0,03	3,74±0,06 ^{*1}	3,22±0,16 ^{*1}	2,18±0,13 ^{*1-3}
НСТ-ст. о/з	mOD	1,6±0,07	3,87±0,02 ^{*1}	3,77±0,06 ^{*1}	2,23±0,15 ^{*1-3}
КАн	—	1,54±0,02	1,78±0,02 ^{*1}	1,51±0,02 ^{*2}	1,92±0,03 ^{*1,3}
КАо	—	1,88±0,01	1,84±0,04	1,77±0,06	1,97±0,07 ^{*1-3}
КО	—	1,22±0,03	1,03±0,06 ^{*1}	1,17±0,05 ^{*2}	1,02±0,02 ^{*1,3}
АГП	усл. ед.	0,37±0,03	7,20±0,07 ^{*1}	5,44±0,04 ^{*1,2}	1,32±0,08 ^{*1-3}
МДА	мкмоль/л	1,76±0,07	19,11±1,93 ^{*1}	15,4±1,33 ^{*1,2}	11,14±1,79 ^{*1-3}
Каталаза	мкат/л	12,1±0,31	4,0±1,8 ^{*1}	6,5±0,2 ^{*1,2}	18,5±1,2 ^{*1-3}
ОАА	%	47,9±0,55	21,1±1,5 ^{*1}	24,2±0,22 ^{*1,2}	34,12±0,12 ^{*1-3}
СМ _{NO}	мкмоль/л	1,75±0,09	2,5±0,1 ^{*1}	3,02±0,03 ^{*1,2}	3,81±0,01 ^{*1-3}

Таблица 3

Влияние комбинации полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н на иммунные и оксидантные показатели при экспериментальном остром панкреатите тяжелой степени

Table 3

Effect of a combination of Polyoxidonium, Emoxipine and Essentiale N on immune and oxidant parameters in experimental acute pancreatitis of severe degree

Показатель	Единицы измерения	1	2	3	4
		Контрольная группа	ЭОП тяжелой степени		
			Без препаратов	Ферровир + мексидол + фос-фоглив	Полиоксидоний + эмоксипин + эссенциале Н
АОК	тыс./селезен.	26,4±2,1	5,7±1,5 ^{*1}	5,5±1,2 ^{*1}	16,2±1,1 ^{*1-3}
РМ	мг	2,43±0,02	0,14±0,02 ^{*1}	0,1±0,01 ^{*1}	0,8±0,01 ^{*1-3}
РК	10 ⁶ лимфоцитов	1,81±0,03	0,06±0,03 ^{*1}	0,03±0,01 ^{*1}	0,11±0,02 ^{*1-3}
ФП	%	77,5±2,6	50,3±2,8 ^{*1}	59,2±1,2 ^{*1,2}	63,3±2,1 ^{*1,2}
ФЧ	абс.	2,18±0,03	1,1±0,08 ^{*1}	1,8±0,11 ^{*1,2}	1,7±0,21 ^{*1,2}
ИАФ	—	1,62±0,09	0,55±0,02 ^{*1}	1,06±0,09 ^{*1,2}	1,07±0,11 ^{*1,2}
НСТ-сп.	mOD	0,85±0,04	3,5±0,08 ^{*1}	2,53±0,12 ^{*1,2}	2,13±0,15 ^{*1-3}
НСТ-ст. н/з	mOD	1,31±0,03	5,74±0,16 ^{*1}	4,13±0,11 ^{*1,2}	3,23±0,31 ^{*1-3}
НСТ-ст. о/з	mOD	1,6±0,07	7,82±0,17 ^{*1}	6,87±0,12 ^{*1,2}	5,54±0,28 ^{*1-3}
КАн	—	1,54±0,02	1,64±0,01 ^{*1}	1,63±0,01 ^{*1}	1,51±0,01 ^{*1,2}
КАо	—	1,88±0,01	2,23±0,08 ^{*1}	2,72±0,03 ^{*1,2}	2,6±0,05 ^{*1,2}
КО	—	1,22±0,03	1,36±0,04	1,67±0,05 ^{*1,2}	1,7±0,03 ^{*1,2}
АГП	усл. ед.	0,37±0,03	17,40±0,04 ^{*1}	16,99±0,23 ^{*1}	4,51±0,03 ^{*1-3}
МДА	мкмоль/л	1,76±0,07	29,1±2,91 ^{*1}	30,1±2,54 ^{*1}	17,14±1,99 ^{*1-3}
Каталаза	мкат/л	12,1±0,31	2,0±1,4 ^{*1}	2,6±1,0 ^{*1,2}	8,5±1,0 ^{*1-3}
ОАА	%	47,9±0,55	10,0±1,2 ^{*1}	11,1±0,13 ^{*1}	17,22±0,14 ^{*1,2}
СМ _{NO}	мкмоль/л	1,75±0,09	0,5±0,3 ^{*1}	0,76±0,03 ^{*1,2}	0,81±0,05 ^{*1,2}

При оценке матрицы множественных корреляций иммунных и оксидантных показателей при ЭОП легкой степени тяжести обнаружены отрицательные корреляционные связи между показателями адаптивных форм иммунного ответа и процессами фагоцитоза, между кислородзависимой активностью нейтрофилов периферической крови и оксидантными показателями обнаружены положительные достоверные корреляционные связи. Активность каталазы при легкой степени тяжести ЭОП достоверно не коррелировала с показателями иммунного статуса. Суммарно между параметрами иммунитета и оксидантного статуса выявлено 48 достоверных корреляций.

При ЭОП средней степени тяжести суммарное количество корреляций было 43. Показатели гуморальной, клеточной форм иммунного ответа и продукты перекисного окисления липидов (МДА и АГП) были связаны отрицательными корреляционными связями, а активность каталазы и ОАА – положительными. Метаболическая активность нейтрофилов периферической крови имела положительные корреляционные связи с продуктами ПОЛ и отрицательные – с активностью каталазы и ОАА. Титр стабильных метаболитов NO не коррелировал с параметрами врожденного и адаптивного иммунитета.

При моделировании ЭОП тяжелой степени коррелировали все показатели иммунной и оксидантной систем (50 достоверных корреляций). При этом, положительные достоверные корреляционные связи, как и при ЭОП средней степени тяжести, выявлены между гуморальной, клеточной формами иммунного ответа, процессами фагоцитоза и активностью каталазы, ОАА, а также уровнем CM_{NO} . Отрицательные корреляционные связи выявлены между антиоксидантными показателями и метаболической активностью нейтрофилов периферической крови, но положительные связи кислородзависимой активности нейтрофилов периферической крови с содержанием продуктов перекисного окисления липидов.

Таким образом, если в отношении легкой формы ОП изменения минимальные и полностью корректируются комбинациями

ферровира, мексидола и фосфоглива или полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н, то при ОП средней и тяжелой степенях наблюдаются более выраженные иммунометаболические нарушения, недостаточно эффективно корректируемые предложенными комбинациями лекарственных средств, что согласуется с результатами, полученными другими исследователями [19-21].

Клинические исследования проведены у небольшой группы пациентов с острым панкреатитом билиарной этиологии. В день госпитализации все больные с ОП билиарной этиологии легкой степени, получавшие консервативное лечение, предъявляли жалобы на боли в верхних отделах живота опоясывающего характера, диспептические расстройства, выраженную слабость. При обследовании у лиц с ОП билиарной этиологии легкой степени тяжести, не нуждавшихся в операции, дыхательных и гемодинамических расстройств не было, при пальпации живота отмечались боли и напряжение в эпигастрии, у 13 человек (6 больных в группе, получавшей базисное лечение и 7 пациентов, дополнительно получавших полиоксидоний, эмоксипин и эссенциале Н) пальпировалось дно желчного пузыря. Симптомы перитонита у всех больных были отрицательные.

При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости микрохолецистолитиаз отмечался у 21 пациента (10 больных, получавших базисное лечение и 11 пациентов, получавших иммуномодулирующую, антиоксидантную и мембранопротекторную терапию), крупные конкременты обнаружены у 7 пациентов (3 и 4 пациента в соответствующих группах). В 12 (по 6 больных в каждой группе) из 28 случаев выявлены признаки острого холецистита, у остальных – признаки хронического холецистита. Признаки желчной гипертензии у обследуемых не определялись. Увеличение размеров поджелудочной железы по сравнению с нормой отмечалось в 1,2-1,3 раза у всех больных. При фиброгастроуденоскопии у 28 больных в двенадцатиперстной кишке были обнаружены следы желчи, что косвенно свидетельствовало о проходимости желчных протоков, а у 23 (10 в группе, ле-

чившейся в соответствии с НКР, 13 – в группе, дополнительно получавшей иммуномодулятор, мембранопротектор и антиоксидант) – обнаружены явления папиллита и косвенные признаки панкреатита. В 8 случаях (по 4 пациента каждой группы) большой сосочек двенадцатиперстной кишки располагался в парапапиллярном дивертикуле.

Учитывая отсутствие осложнений желчнокаменной болезни, больным этой группы проводилось только медикаментозное лечение, а хирургические вмешательства были выполнены – в отсроченном порядке после купирования симптомов острого воспаления поджелудочной железы [22]. Летальных исходов не было.

При поступлении в клинику у всех пациентов с ОП легкой степени тяжести билиарной этиологии обнаружено значительное повышение в плазме крови уровня провоспалительных цитокинов, противовоспалительного IL-4, кислородзависимой активности полиморфноядерных лейкоцитов в спонтанном и стимулированном НСТ-тесте, концентрации промежуточных и конечных продуктов ПОЛ, общей антиокислительной активности плазмы крови, снижение концентрации C₃- и C₄-компонентов комплемента, количества фагоцитирующих гранулоцитов и числа поглощенных ими частиц (снижение ФП, ФЧ), при нормальном уровне IL-10, нормальной активности ферментов антиоксидантной защиты (СОД и каталазы).

Стандартное медикаментозное лечение больных с билиарной этиологией ОП легкой степени тяжести корригировало содержание в плазме крови TNF, IL-6, IL-4, C₄-компонента комплемента, не влияло на уровень IL-1 β , IL-8, G-КСФ, C₃-компонента комплемента, ОАА, повышало концентрацию IL-10, уровень продуктов перекисного окисления липидов. В сравнении с исходными показателями и здоровыми донорами стандартное лечение снижало функциональную активность нейтрофилов периферической крови.

Включение в терапию пациентов с легкой степенью тяжести ОП билиарной этиологии сочетания полиоксидония,

эмоксипина и эссенциале Н по сравнению со стандартным лечением нормализовало концентрацию TNF, IL-6, IL-8, IL-4, параметры функциональной активности нейтрофилов периферической крови, содержание промежуточных и конечных продуктов ПОЛ, ОАА, корригировало содержание G-КСФ, уровень C₄-компонента системы комплемента.

Все пациенты этой группы были выписаны из стационара в удовлетворительном состоянии. Купирование болевого синдрома на фоне консервативной инфузионной и спазмолитической терапии наблюдалось в течение суток с момента начала лечения, что позволило воздержаться от активной хирургической тактики у пациентов данной группы с легким ОБП. Сроки лечения в стационаре у больных, получавших базисное лечение (в соответствии с национальными клиническими рекомендациями) составляли от 7 до 14 суток, что напрямую зависело от сроков купирования клинической симптоматики и инструментальных (данные УЗИ и КТ) признаков нормализации размеров поджелудочной железы, отсутствия развития осложнений. В группе больных, получавших сочетание полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н сроки госпитализации составили от 6 до 9 суток, так как купировать воспаление в поджелудочной железе удавалось добиться в более короткие сроки. Видеолапароскопическая холецистэктомия всем больным выполнялась в отсроченном периоде после нормализации клинических, лабораторных и инструментальных показателей.

При поступлении в стационар все пациенты с ОП билиарной этиологии легкой степени (22 человека), оперированные по поводу желчнокаменной болезни и ее осложнений в соответствии с национальными клиническими рекомендациями [22, 23], по сравнению с предыдущей группой предъявляли жалобы на более выраженные боли в верхних отделах живота опоясывающего характера, тошноту, рвоту, выраженную слабость. Объективно при осмотре обращали на себя внимание резкие боли и напряжение при пальпации верхних отделов живота. У 18 пациентов при пальпации

определялось напряженное болезненное дно желчного пузыря. Симптомы перитонита на момент осмотра были отрицательные.

При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости микрохолецистолитиаз диагностирован у 17 пациентов (8 больных, получавших лечение согласно НКР и 9 больных, дополнительно получавших сочетание полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н), крупные конкременты желчного пузыря обнаружены у 5 (3 и 2 соответственно в изученных подгруппах). Из 22 больных у 9 человек (5 и 4 пациентов, соответственно получавших базисное лечение, либо в сочетании с иммуномодулятором, антиоксидантом и мембранопротектором) по данным ультразвукового исследования были выявлены признаки острого холецистита, в других 13 случаях (7 пациентов, лечившихся по НКР и 6 больных, дополнительно получавших сочетание полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н) стенка желчного пузыря была не изменена. В 11 случаях (у 5 пациентов, получавших базисное лечение и у 6, получавших дополнительно полиоксидоний, эмоксипин, эссенциале Н) наблюдалась желчная гипертензия I-II типа. Со стороны поджелудочной железы у всех больных имело место увеличение размеров поджелудочной железы по сравнению с нормой в 1,5-1,6 раза.

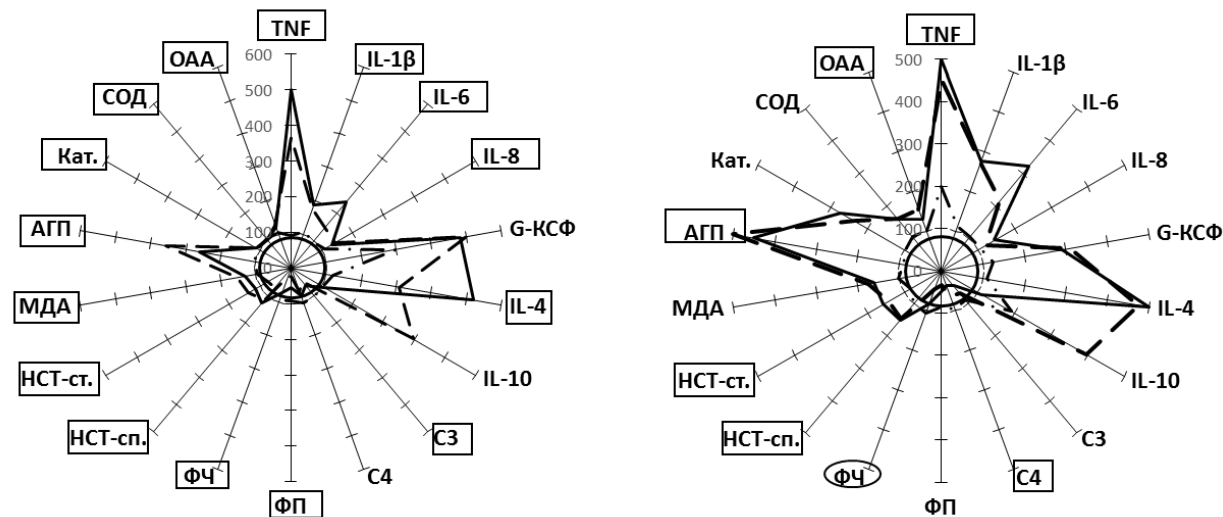
Эндоскопически в 4 случаях (по 2 пациента каждой подгруппы) был обнаружен вклиненный камень большого сосочка двенадцатиперстной кишки, ввиду чего была произведена экстренная эндоскопическая папиллотомия на конкременте с последующей ретроградной холангиографией, во всех остальных случаях выполняли антеградные вмешательства на внепеченочных желчных путях. У 18 пациентов (10 в подгруппе, лечившейся согласно НКР и 8 больных, дополнительно получавших сочетание иммуномодулятора, мембранопротектора и антиоксиданта) обнаружены явления папиллита и косвенные признаки панкреатита. У 4 пациентов большой сосочек двенадцатиперстной кишки визуально был не изменен.

У больных с ОП легкой степени тяжести билиарной этиологии, для лечения ко-

торых помимо медикаментозного лечения было необходимо применение малоинвазивных хирургических методов лечения желчнокаменной болезни, до операции установлено более значимое по сравнению с предыдущей группой повышение в плазме крови провоспалительных (TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, G-КСФ), IL-4, кислородзависимой активности нейтрофилов периферической крови, снижение концентрации С₃- и С₄-компонентов системы комплемента, ФП, ФЧ, нормальный уровень IL-10 и НСТ-сп.

При оценке метаболических показателей также, как и в предыдущей группе обнаружено повышение продуктов перекисного окисления липидов (МДА и АГП), но в отличие от группы больных, которые получали только медикаментозную терапию, наблюдалось повышение активности каталазы и СОД, а также ОАА (рисунок 1).

В связи с отсутствием клинически значимых эффектов от консервативного лечения у больных этой группы потребовалось применение методик малоинвазивной хирургии. Лапароскопическая холецистэктомия, интраоперационная антеградная холангиография выполнена 11 больным (5 получавшим стандартное лечение, 6 – получавшим дополнительно полиоксидоний, эмоксипин и эссенциале Н). Аналогичная операция в сочетании с антеградной эндоскопической папиллосинктеротомией – еще 5 больным (2 больным, получавшим стандартное лечение и 3, дополнительно получавшим иммунокорректирующую и метаболическую терапию). В 2 случаях (по одному больному в каждой группе) выполнялась эндоскопическая папиллосфинктеротомия, ретроградная холангиография, литоэкстракция, а еще у 2 больных это вмешательство было первым этапом, затем выполнялась лапароскопическая холецистэктомия. Диапевтические методы, включавшие чрескожную чреспеченочную холангиостомию, либо холецистостомию, выполнены еще 2 пациентам (по одному в каждой группе).



Обозначения:

1 – радиус окружности – показатели здоровых доноров, 2 – ——— – показатели больных ОБП легкой и средней степени тяжести до лечения; 3 – — — — – показатели больных с ОБП легкой и средней степени тяжести после стандартного лечения; 4 – — · — – показатели больных с ОБП легкой и средней степени тяжести после стандартного лечения + полиоксидоний, эмоксипин, эссенциале Н; 5 – ○ – показатель, нормализованный стандартным лечением ($p > 0,05$); 6 – □ – показатель, дополнительно нормализованный стандартным лечением + полиоксидоний, эмоксипин, эссенциале Н ($p > 0,05$)

Keys:

1 – radius of a circle – indicators of healthy donors, 2 – ——— – indicators of patients with mild and moderate forms of ABP before treatment; 3 – — — — – indicators of patients with mild and moderate forms of ABP after standard treatment; 4 – — · — – indicators of patients with light and moderately severe obculodexia after standard treatment + polyoxidonium, emoxipin, Essentiale N; 5 – ○ – indicator, normalized by standard treatment ($p > 0.05$); 6 – □ – indicator, additionally normalized by standard treatment + polyoxidonium, emoxipin, Essentiale N ($p > 0.05$)

Рис. 1. Изменение иммунных и метаболических показателей у больных ОБП легкой и средней степени тяжести, до и после оперативного лечения и дополнительного применения полиоксидония, эмоксипина, эссенциале Н

Fig. 1. Alteration of immune and metabolic indicators in patients with acute biliary pancreatitis of mild and moderate severity, before and after the surgical treatment and the additional application of Polyoxidonium, Emoxipin, Essentiale N

Базисное лечение больных с легкой степенью тяжести ОП билиарной этиологии в послеоперационном периоде корригировало в плазме крови концентрацию TNF, IL-6, IL-4, С₃, С₄-компонентов системы комплемента, не влияло на уровень IL-1 β , IL-8, G-КСФ, кислородзависимую активность гранулоцитов, активность ферментов антиоксидантной защиты, ОАА, но снижало ФП, ФЧ и повышало уровень IL-10, МДА и АГП (см. рисунок 1).

Включение в комплексное лечение больных с легкой степенью тяжести ОП билиарной этиологии полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н после операции нормализовало титр в крови IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-4, С₃, С₄-компонентов, функциональную активность нейтрофилов, уровень МДА и АГП, активность каталазы, СОД и ОАА, в большей степени по сравнению со стандартным лечением корригировало титр TNF, G-КСФ, ФП и повышало титр ИЛ-10 (см. рисунок 1).

При сравнении значений иммунных и оксидантных показателей у пациента с легкой степенью ОП билиарной этиологии было обнаружено, что, несмотря на одинаковое общее количество измененных показателей, у лиц с билиарной этиологией ОП, получавших медикаментозное лечение, при поступлении в стационар было меньшее число показателей со II-III СР. В группе больных с легкой степенью тяжести ОП билиарной этиологии без операции количество показателей со II-III СР было 53,8%, нуждающихся в обязательной коррекции. Максимальное число показателей со II-III СР было в группе оперированных больных с легким ОП билиарной этиологии и составляло 76,9%. На фоне стандартного лечения около 60% показателей оставались на уровне до лечения. Только при дополнительном включении полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н удалось добиться практически полной нормализации указанных показателей.

Все пациенты этой группы также были выписаны из стационара в удовлетворительном состоянии. Тяжесть общего состояния, оцениваемая по шкале АРАСНЕП не превышала 6, что позволяло осуществлять

перевод больных из реанимационного отделения в хирургическое не следующий день после операции. Купирование болевого синдрома на фоне консервативной инфузионной и спазмолитической терапии наблюдалось в подгруппе, не получавшей иммунореабилитацию до 3-4 суток после операции, а в группе, дополнительно получавшей сочетание полиоксидоний, эмоксипин, эссенциале Н – через 2-3 дня после операции. Сроки лечения в стационаре у больных, получавших базисное лечение по НКР составляли от 15 до 18 дней, в группе, дополнительно получавшей иммуномодулятор, антиоксидант и мембранопротектор – от 14 до 16 дней, совпадая со сроками купирования клинической симптоматики и инструментальных признаков нормализации размеров поджелудочной железы.

Применение коэффициента ранговой корреляции Спирмена позволило установить связи между наиболее измененными лабораторными показателями и клинической симптоматикой у больных с легкой степенью тяжести ОП. Полученные данные позволяют рекомендовать для оценки динамики течения заболевания и эффективности лечения при легкой степени тяжести ОП: TNF, IL-2, IL-4, IL-10, С₃-компонент системы комплемента, МДА, активность каталазы, ОАА.

У больных с ОП билиарной этиологии средней степени тяжести, при поступлении в стационар отмечался стойкий болевой синдром, плохо купируемый применением анальгетиков и спазмолитиков. Все пациенты предъявляли жалобы на резкие боли в верхних отделах живота опоясывающего характера, тошноту, рвоту, выраженную слабость. Объективно общее состояние больных этой группы было не выше среднетяжелого, а явления транзиторной органной недостаточности, оцениваемой по шкале АРАСНЕП имели место не более 48 часов, что потребовало проведения интенсивной терапии в условиях реанимационного отделения. При пальпации живота – резкие боли и напряжение определялись в эпигастрии, у 22 пациентов пальпировалось дно желчного пузыря и инфильтрат в области эпигастрия.

При УЗИ обнаружен микрохолецистолитиаз у 20 лиц, крупные конкременты обнаружены у 2 лиц. Из 22 пациентов у 4 человек были выявлены признаки острого холецистита, у других больных диагностирован хронический холецистит (поровну в каждой из подгрупп пациентов). В 12 случаях наблюдалась желчная гипертензия I-II типа (поровну в каждой подгруппе). Со стороны панкреаса сонографически увеличение размеров по сравнению с нормой было в 1,7 раза, нечеткость и размытость ее контуров наблюдалась у 20 лиц, у всех больных этой группы были обнаружены экссудативные скопления брюшной полости, в 11 случаях в послеоперационном периоде – развитие парапанкреатического инфильтрата.

Эндоскопически у 4 больных диагностирован вклиненный камень большого сосочка двенадцатиперстной кишки, поэтому была выполнена экстренная эндоскопическая папиллосфинктеротомия на конкременте, с последующей ретроградной холангиографией (по 2 пациента в подгруппе, лечившейся по НКР и дополнительно получавших сочетание полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н). У 15 больных обнаружены явления папиллита и косвенные признаки панкреатита (8 и 7 больных в обследуемых подгруппах соответственно). У 7 пациентов большой сосочек двенадцатиперстной кишки визуально был не изменен (3 и 4 пациента соответственно).

Объем оперативных вмешательств при ОБП средней степени тяжести был представлен: видеолaparоскопической холецистэктомией в сочетании с антеградной холангиографией – у 12 больным (5 в подгруппе, получавшей лечение по НКР и 7 – дополнительно получавшим полиоксидоний, эмоксипин и эссенциале Н). Такая же операция в сочетании с антеградной папиллосфинктеротомией выполнена еще 4 больным (по 2 в каждой подгруппе). Эндоскопическая папиллосфинктеротомия, ретроградная холангиография, литоэкстракция 2 пациентам, эндоскопическая папиллосфинктеротомия, ретроградная холангиография, литоэкстракция, а в последующем лапароско-

пическая холецистэктомия – 2 больным, чрескожная чреспеченочная холангиостомия, либо холецистостомия – 2 пациентам (поровну в каждой подгруппе больных).

У больных с ОП билиарной этиологии средней степени тяжести до лечения по сравнению со здоровыми донорами выявлено повышение в плазме крови концентрации провоспалительных цитокинов (TNF, IL-1 β), IL-2, IL-4, C₄-компонента комплемента, кислородзависимой активности нейтрофилов периферической крови и снижение – IL-1Ra, фагоцитарной активности гранулоцитов, ингибитора системы комплемента – фактора Н. Кроме того, у больных с ОП средней степени тяжести билиарной этиологии в крови оказалось повышено содержание как продуктов ПОЛ (МДА и АГП), так и активность каталазы, СОД и ОАА (см. рисунок 1).

Традиционная медикаментозная терапия в послеоперационном периоде позволила у больных с ОП билиарной этиологии средней степени тяжести полностью нормализовать ФЧ и частично титр TNF, IL-2, C₄-компонента комплемента и МДА (см. рисунок 1).

Включение в терапию комплекса полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н у больных с ОП средней степени тяжести билиарной этиологии в сравнении с традиционным лечением дополнительно нормализует TNF, содержание C₄-компонента, кислородзависимую активность нейтрофилов, концентрацию МДА и C₁-ингибитора, ОАА и повышает концентрацию ИЛ-4, фактора Н, активность каталазы и СОД (см. рисунок 1).

Подсчет показателей, измененных до терапии и скорректированных различными способами лечения, у больных с ОП средней степени тяжести билиарной этиологии позволил установить следующее: всего нарушенными было 77,8% показателей, из них со II-III СР до лечения было 66,7%. Стандартное лечение при билиарном ОП средней степени тяжести нормализовало и корригировало 14,8% показателей, при этом оставалось со II-III СР 70,4% показателей. Включение в комплексное лечение больных ОП

полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н нормализовало 49,6% показателей, корригировало 28,6%, при этом без коррекции оставалось 21,8%, из которых со II-III СР – 31,3% иммунных и оксидантных показателей.

Использование коэффициентов ранговой корреляции Спирмена между лабораторными показателями и клинической симптоматикой заболевания позволило выделить наиболее информативные для их дифференциальной лабораторной диагностики: содержание в плазме крови IL-2, IL-10, С3-компонента комплемента, ОАА.

Таким образом, становится ясно, что при ОП средней степени тяжести билиарной этиологии наблюдаются более выраженные изменения иммунных и оксидантных показателей, которые недостаточно эффективно корригируются стандартным лечением. Включение сочетания полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н эффективнее корригирует иммунометаболические изменения при ОП средней степени тяжести. Однако, комбинированное применение средств с иммуномодулирующими, антиоксидантными и мембранопротекторными эффектами при различных заболеваниях в литературе обсуждается [24, 25]. Исходя из динамики клинических и лабораторных показателей у больных с ОБП различной степени тяжести и с учетом проведения иммуномодулирующей, антиоксидантной и мембранопротекторной терапии, настоящая работа позволила модифицировать разработанный на кафедре хирургических болезней №2 лечебно-диагностический алгоритм [22] (рисунок 2).

Заключение. Комбинация ферровира, мексидола и фосфоглива при экспериментальном остром панкреатите легкой степени тяжести корригирует 13,3% и нормализует 80% исследованных лабораторных иммунных и оксидантных показателей, при средней степени тяжести соответственно – 50% и 18,7%, при тяжелой – приближает к значениям контроля. Введение полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н крысам с легкой формой острого панкреатита полностью нормализует лабораторные параметры иммунного и оксидантного статуса, при средней степени тяжести нормализует 25% и корригирует 75%, при тяжелой корригирует все изученные показатели.

Включение в комплексное лечение больных острым панкреатитом билиарной этиологии легкой степени тяжести сочетания полиоксидония, эмоксипина с эссенциале Н по сравнению со стандартным лечением полностью нормализует изменения иммунных и оксидантных показателей. При средней степени тяжести используемая схема нормализует и корригирует суммарно 78,4% лабораторных иммунометаболических параметров. Фармакологическая эффективность полиоксидония, эмоксипина и эссенциале Н при остром билиарном панкреатите легкой и средней степени тяжести позволяет ограничиться применением малоинвазивных хирургических методов лечения и выполнить оперативное лечение желчнокаменной болезни в отсроченном порядке, а при отсутствии позитивных эффектов указанной комбинации, являющихся показателем утяжеления течения заболевания, осуществлять ранний переход к активной тактике с применением малоинвазивных и традиционных хирургических методов лечения.

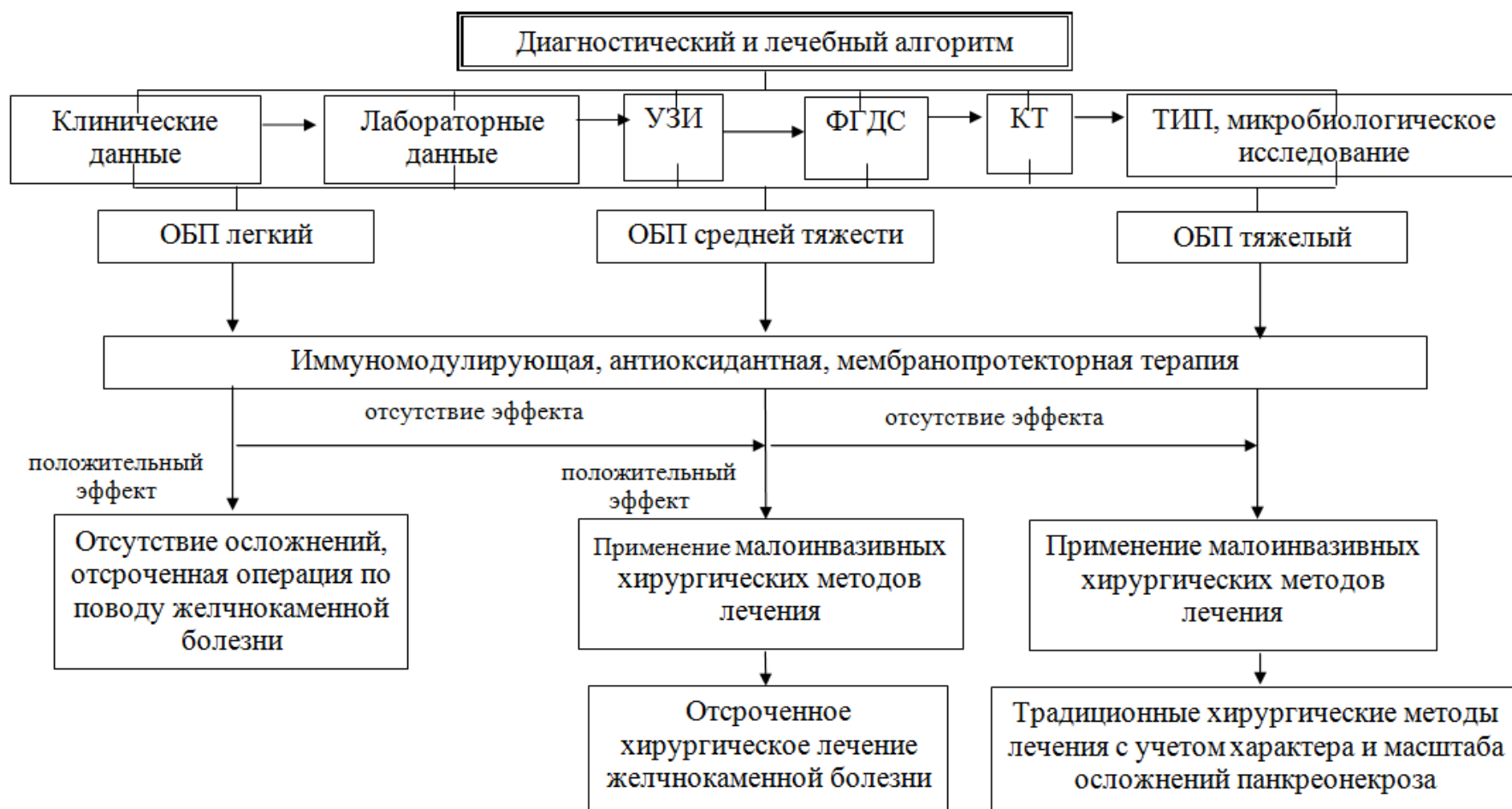


Рис. 2. Диагностический и лечебный алгоритм при ОП билиарной этиологии при проведении иммуномодулирующей, мембранопротекторной и антиоксидантной терапии

Fig. 2. Diagnostic and therapeutic algorithm in acute pancreatitis of biliary etiology during immunomodulatory, membrane-protective and antioxidant therapy

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Караулов А.В. Иммунология, микробиология, иммунопатология кожи. Москва: Бинном, 2012. 328 с.
2. 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. N 16(213). С. 141-148.
3. Применение ронколейкина для коррекции вторичного иммунодефицита пациентов пожилого и старческого возраста с острым холециститом / М.Б. Полянский [и др.] // Российский иммунологический журнал. 2017. Т. 11(20), N 3. С. 470-471.
4. 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. DOI: 10.1016/j.pan.2017.02.011
5. Отдаленные результаты лечения тяжелого острого панкреатита / А.С. Ермолов [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2016. N 10. С. 11-15. DOI: 10.17116/hirurgia20161011-15
6. Классификация острого панкреатита: современное состояние проблемы / С.Ф. Багненко [и др.] // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 2015. Т. 174, N 5. С. 86-92. DOI: <https://doi.org/10.24884/0042-4625-2015-174-5-86-92>
7. Коррекция метаболической активности эритроцитов периферической крови при экспериментальном остром токсическом поражении печени / М.С. Разумова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2016. N 5. С. 51.
8. BCL3 Reduces the Sterile Inflammatory Response in Pancreatic and Biliary Tissues / L. Song [et al.] // Gastroenterology. 2016. Vol. 150(2). P. 499-512. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.10.017
9. Конопля А.И. Взаимосвязь иммунометаболических и эритроцитарных нарушений с этиологией острого панкреатита. Курск: Изд-во ГОУ ВПО КГМУ Минздрава России, 2013. 162 с.
10. Дифференциальная лабораторная диагностика острого билиарного и небилиарного панкреатита / А.Л. Локтионов [и др.] // Научные ведомости БелГУ. Сер.: Медицина. Фармация. 2015. Вып. 31, N 16(213). С. 31-39.
11. Покровский М.В. Эндотелиопротективные эффекты адеметионина при эндотелиальной дисфункции. Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. 2017. Т. 19, N 8. С. 169-172.
12. Лазаренко В.А. Коррекция лонгидазой цитокинсинтетической активности перитонеальных макрофагов при остром панкреатите различной этиологии. Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. 2010. N 4. С. 79-83.
13. The Receptor for Advanced Glycation End Products Activates the AIM2 Inflammasome in Acute Pancreatitis / R. Kang [et al.] // J Immunol. 2016. Vol. 196(10). P.4331-4337. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1502340>
14. Комбинированная иммуномодулирующая, антиоксидантная и мембранопротекторная терапия при различных формах острого экспериментального панкреатита / П.К. Микаелян [и др.] // Медицинская иммунология. 2017. N 19. С.48-49.
15. Зинкин В.Ю. Способ оценки кислородзависимого метаболизма нейтрофильных гранулоцитов человека // Клиническая и лабораторная диагностика. 2004. N 2. С. 27-31.
16. Гублер Е.В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Москва: Медицина, 1973. 141 с.
17. Клиническая иммунология и аллергология / А.М. Земсков [и др.]. Москва: Издательство Истоки, 2016. 279 с.
18. Показатели иммунного и оксидантного статуса при диагностике острого панкреатита билиарной и небилиарной этиологии / О.А. Суняйкина [и др.] // Медицинская иммунология. 2015. Т. 17, N 4. С. 385.
19. Влияние рефортана на цитокинпродуцирующую активность перитонеальных макрофагов при остром панкреатите / А.Л. Локтионов [и др.] // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2010. Т. 9, N 3. С. 712-717.
20. Anti-B7-H3 monoclonal antibody ameliorates the damage of acute experimental pancreatitis by attenuating the inflammatory response / X. Zhuang [et al.] // Int Immunopharmacol. 2016. N 35. P.1-6. DOI: 10.1016/j.intimp.2016.03.013

21. Complement in Pancreatic Disease – Perpetrator or Savior? / L. Bettac [et al.] // Front Immunol. 2017. Vol. 17(8). P. 15. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00015>

22. Хирургическая тактика при остром билиарном панкреатите / П.М. Назаренко [и др.] // Анналы хирургической гепатологии. 2011. Т. 16, N 3. С. 71-76.

23. Лазуткин М.В. Чрескожные пункционные и эндоскопические вмешательства в лечении осложнений хронического панкреатита. Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 2014. Т. 173, N 2. С. 118-121. DOI: <https://doi.org/10.24884/0042-4625-2014-173-2-118-121>

24. Земсков, А.М. Клиническая эффективность применения иммуотропных препаратов при гнойных инфекциях. Хирургия. 2011. N 2. С. 4-10.

25. Pathophysiological mechanisms of acute pancreatitis define inflammatory markers of clinical prognosis / G.A. Minkov [et al.] // Pancreas. 2015. Vol. 44(5). P. 713-717. DOI: [10.1097/MPA.0000000000000329](https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000000329)

References

1. Karaulov AV. [Immunology, Microbiology, Immunopathology]. Moscow: Binom; 2012. Russian.

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

3. Polyanskiy MB, Nazarenko PM, Ishunina TA, et al. [The use of roncoleukin for the correction of the secondary immunodeficiency in the elderly patients with acute cholecystitis]. The Russian Journal of Immunology. 2017;11(20)(3):470-471. Russian.

4. 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. DOI: [10.1016/j.pan.2017.02.011](https://doi.org/10.1016/j.pan.2017.02.011)

5. Ermolov AS, Blagovestnov DA, Rogal ML, et al. [Long-term results of severe acute pancreatitis management]. Khirurgiya. Zhurnal imeni N.I. Pirogova. 2016;10:11-15. Russian. DOI: [10.17116/hirurgia20161011-15](https://doi.org/10.17116/hirurgia20161011-15)

6. Bagnenko SF, Gol'tsov VP, Savello VE, et al. [Classification of acute pancreatitis: current

state of the issue]. Vestnik khirurgii imeni I.I. Grekova. 2015;174(5):86-92. Russian. DOI: <https://doi.org/10.24884/0042-4625-2015-174-5-86-92>

7. Razumova MS, Litvinova ES, Bystrova NA, et al. [Correction of metabolic activity of erythrocytes of a peripheral blood at an experimental acute toxic lesion of a liver]. Modern problems of science and education. 2016;5:51. Russian.

8. Song L, Wörmann S, Ai J, et al. PBCL3 Reduces the Sterile Inflammatory Response in Pancreatic and Biliary Tissues. Gastroenterology. 2016;150(2):499-512. DOI: [10.1053/j.gastro.2015.10.017](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.10.017).

9. Konoplya AI. The relationship of immunometabolic and erythrocyte disorders in the etiology of acute pancreatitis. Kursk: Kursk State Medical University; 2013. Russian.

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

11. Pokrovsky MV. [Endothelioprotective effects of ademetionine in endothelial dysfunction]. The Journal of scientific articles "Health and Education millennium". 2017;19(8):169-172. Russian.

12. Lazarenko VA, Loktionov AL, Azarova YuE, et al. [Correction of cytokinesynthetic activity of peritoneal macrophages with longidaza in acute pancreatitis of various etiology]. Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and Health". 2010;4:79-83. Russian.

13. Kang R, Chen R, Xie M, et al. The Receptor for Advanced Glycation End Products Activates the AIM2 Inflammasome in Acute Pancreatitis. J Immunol. 2016;196(10):4331-4337. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1502340>

14. Mikaelyan PK, Loktionov AL, Karaulov AV, et al. [Combined immunomodulatory, antioxidant and membrane-protective therapy in various forms of acute experimental pancreatitis]. Medical Immunology (Russia). 2017;19:48-49. Russian.

15. Zinkin VYu. [A method of quantitative evaluation of oxygen-dependent metabolism of human neutrophil granulocytes]. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2004;2:27-31. Russian.

16. Gubler EV. [Application of nonparametric statistical criteria in biomedical research]. 2nd ed. Moscow: Medicine; 1973. Russian.

17. Zemskov AM, Zemskov VM, Kozlov VA, et al. [Clinical Immunology and Allergology]. Moscow: Istoki publishers; 2016. Russian.

18. Sunyaikina OA, Konoplya AI, Loktionov AL, et al. [Indicators of immune and oxidative sta-

tus in the diagnosis of acute pancreatitis of biliary and nonbiliary etiology]. *Medical Immunology (Russia)*. 2015;17(4):385. Russian.

19.Loktionov AL, Karaulov AV, Konoplya AI, et al. [Influence of refortane on cytokinoproduction activity of peritoneal macrophages at the acute pancreatitis]. *Systems analysis and management in biomedical systems*. 2010;9(3):712-717. Russian.

20.Zhuang X, Shen J, Jia Z, et al. Anti-B7-H3 monoclonal antibody ameliorates the damage of acute experimental pancreatitis by attenuating the inflammatory response. *Int Immunopharmacol*. 2016;35:1-6. DOI: 10.1016/j.intimp.2016.03.013

21.Bettac L, Denk S, Seufferlein T, et al. Complement in Pancreatic Disease – Perpetrator or Savior? *Front Immunol*. 2017;17(8):15. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00015>

22.Nazarenko PM, Nazarenko DP, Kanishchev YuV, et al. [Surgical Strategy in Acute Biliary Pancreatitis]. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii*. 2011;16(3):71-76. Russian.

23.Lazutkin MV. [Percutaneous puncture and endoscopic interventions in the treatment of complications of chronic pancreatitis]. *Vestnik khirurgii imeni I.I.Grekova*. 2014;173(2):118-121. Russian. DOI: <https://doi.org/10.24884/0042-4625-2014-173-2-118-121>

24.Zemskov AM. [Clinical efficacy of immunostimulating drugs in treatment of purulent infections]. *Khirurgiya. Zhurnal imeni N.I. Pirogova*. 2011;2:4-10. Russian.

25.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. DOI: 10.1097/MPA.0000000000000329

Информация об авторах

Павел Керович Микаелян, соискатель кафедры хирургических болезней №2, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: paul_keropoff@mail.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.

Наталья Анатольевна Быстрова, доктор медицинских наук, профессор кафедры биологической химии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: konoplya51@mail.ru.

Петр Михайлович Назаренко, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней №2, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: nazarenko700pm@yandex.ru.

Information about the authors

Pavel K. Mikaelyan, PhD Applicant of the Department of Surgical Diseases №2, Kursk State Medical University, E-mail: paul_keropoff@mail.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.

Natalya A. Bystrova, Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Biological chemistry, Kursk State Medical University, E-mail: konoplya51@mail.ru.

Peter M. Nazarenko, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Department of Surgical Diseases №2, Kursk State Medical University, E-mail: nazarenko700pm@yandex.ru.

Статья поступила в редакцию 25 сентября 2018 г.
Receipt date 2018 September 25.

Статья принята к публикации 13 декабря 2018 г.
Accepted for publication 2018 December 13.



УДК 615.2

DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-6

А.М. Темирбулатова¹,
Э.Ф. Степанова¹,
Д.В. Веселова^{1,2},
Л.П. Лежнева¹

**Исследования по расширению спектра использования
экстрактов родиолы розовой, липы сердцевидной
и астрагала эспарцетного в медицинской практике**

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
образования «Волгоградский государственный медицинский университет»,
просп. Калинина, д. 11, г. Пятигорск, Ставропольский край, 357532, Российская Федерация
² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Кубанский государственный медицинский университет»,
ул. Митрофана Седина, д. 4, г. Краснодар, 350063, Российская Федерация
Автор для переписки: Д.В. Веселова (d_veselova@mail.ru)

Аннотация

Актуальность: Одной из проблем современной медицины является обеспечение профилактики целого ряда заболеваний, которые вызваны дефицитом микроэлементов в организме человека, а также связаны с изменениями природных и социальных факторов. Однако для получения необходимого эффекта в профилактических целях не всегда целесообразно использовать мощно действующие препараты, а следует применять лекарственные средства, полученные из лекарственных растений и природных веществ. Поиск и разработка высокоэффективных, противовоспалительных, адаптогенных, желчегонных препаратов из лекарственного растительного сырья актуальны в современной медицине. Огромный интерес представляют лекарственные растения: родиола розовая, липа сердцевидная, астрагал эспарцетный, которые хорошо известны в медицинской практике. **Цель исследования:** Совершенствование технологии экстрактов корневищ и корней родиолы розовой, цветков липы сердцевидной и травы астрагала эспарцетного жидких, касающееся соотношения фаз, постановки экстракционного процесса и количества диффузоров для расширения использования в медицинской практике. **Материалы и методы:** Изучены условия экстрагирования корневищ и корней родиолы розовой, цветков липы сердцевидной и травы астрагала эспарцетного. Разработана ресурсосберегающая технология получения родиолы розовой, липы сердцевидной, астрагала эспарцетного экстрактов жидких. Эффективность процесса экстракции составила не менее 70 %. Определены показатели качества жидких экстрактов: описание, определение салидрозидов в экстракте родиолы розовой, и полифенолов в экстрактах липы сердцевидной и астрагала эспарцетного. Количественное определение биологически активных веществ (БАВ) в сырье и экстракте проводили спектрофотометрическим методом. **Результаты:** Определены технологические характеристики лекарственного растительного сырья на примерах: корни и корневища родиолы розовой, цветки липы сердцевидной, трава астрагала эспарцетного. Показана целесообразность данной технологии и ее преимущества, заключающиеся в большей компактности аппаратурной схемы, экономичности и уменьшении времени экстракции. Предложена оптимальная ресурсосберегающая технология экстрагирования сырья спиртом этиловым различной концентрации,

что позволило повысить эффективность экстракции до 70 % выхода экстрактивных веществ. Разработана оптимальная технологическая схема получения экстрактов жидких. **Заключение:** Разработана ресурсосберегающая технология получения родиолы розовой, липы сердцевидной, астрагала эспарцетного экстрактов жидких. Жидкие экстракты родиолы розовой, астрагала эспарцетного рекомендуются как адаптогенное средство, а экстракт липы сердцевидной – противовоспалительное средство.

Ключевые слова: родиола розовая; липа сердцевидная; астрагал эспарцетный; экстракт жидкий; ресурсосберегающая технология; эффективность экстракции

Информация для цитирования: Исследования по расширению спектра использования экстрактов родиолы розовой, липы сердцевидной и астрагала эспарцетного в медицинской практике / А.М. Темирбулатова [и др.] // Научные результаты биомедицинских исследований. 2019. Т. 5, № 1. С. 84-93 [Temirbulatova AM, Stepanova EF, Veselova DV, et al. Research on the expansion of the use of extracts of *Rhodiola rosea*, *Linden cordate* and *Astragalus aspercentage* in clinical practice. Research Results in Biomedicine. 2019;5(1):84-93 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-6

Anna M. Temirbulatova¹,
Eleonora F. Stepanova¹,
Daria V. Veselova^{1,2},
Larisa P. Lezhneva¹

Research on the expansion of the use of extracts of *Rhodiola rosea*,
Linden cordate and *Astragalus aspercentage* in clinical practice

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

² Kuban State Medical University,
4 Mitrofan Sedin St., Krasnodar, 350063, Russia
Corresponding author: Daria V. Veselova (d_veselova@mail.ru)

Abstract

Background: One of the problems of modern medicine is to ensure the prevention of a number of diseases caused by a lack of trace elements in the human body, and are associated with changes in environmental and social factors. However, to obtain the necessary effect for preventive purposes, it is not always advisable to use powerful drugs, on the contrary, it is recommended to use medicines derived from medicinal plants and natural substances. Search and development of highly effective, anti-inflammatory, adaptogenic, choleretic drugs from medicinal plant materials are important in modern medicine. The following medicinal plants are well known and are of great interest for clinical practice: *Rhodiola rosea*, *cordata*, *Astragalus asaraty*. **The aim of the study:** Improvement of the technology of extracts of rhizomes and roots of *rhodiola rosea*, flowers of linden heart-shaped and grass of *astragalus sainfoin* liquid, regarding the relationship of phases, the setting of the extraction process and the number of diffusers. **Materials and methods:** The conditions of extraction of rhizomes and roots of *rhodiola rosea*, flowers of lime heart-shaped and grass of *astragalus sainfoin* were studied. A resource-saving technology for obtaining *rhodiola rosea*, linden heart-shaped, *astragalus* of *sainfoin* extracts of liquid was developed. The efficiency of the extraction process was not less than 70%. The parameters of the quality of liquid extracts were determined: the description, the definition of salidroside in the extract of *rhodiola rosea*, and

polyphenols in extracts of lime heart and astragalus sainfoin. The quantitative determination of biologically active substances (BAS) in raw materials and extracts was carried out with the spectrophotometric method. **Results:** Technological characteristics of medicinal plant raw materials were determined on the following samples: roots and rhizomes of rhodiola rosea, flowers of lime heart-shaped, grass of astragalus sainfoin. The expediency of this technology and its advantages were shown, consisting in the greater compactness of the instrumentation scheme, the economy and the reduction of the extraction time. An optimal resource-saving technology for extracting raw materials with ethyl alcohol of different concentrations was proposed, which made it possible to increase the extraction efficiency to 70% of the yield of extractive substances. An optimal technological scheme for obtaining liquid extracts was developed. **Conclusion:** A resource-saving technology for obtaining rhodiola rosea, linden heart-shaped, astragalus of sainfoin extracts of liquid was developed. Liquid extracts of rhodiola rosea, astragalus sainfoin are recommended as an adaptogenic agent, and linden heart-shaped extract is an anti-inflammatory agent.

Keywords: rhodiola rosea; linden heart-shaped; astragalus sainfoin; extract liquid; resource-saving technology; extraction efficiency

Введение. В настоящее время роль фитопрепаратов в фармацевтической и медицинской практике продолжает оставаться значимой. Эта группа лекарственных средств достаточно востребована, особенно когда стоит вопрос об импортозамещении в фармации [1, 2, 3].

Производство лекарственных фитопрепаратов является многостадийным, поэтому его совершенствование в отношении упрощения процесса является актуальным. Базовой стадией их производства служит экстракция групп биологически активных веществ из сырья [4, 5].

Какой бы фитопрепарат ни получали, как ни сложна была бы его технология и используемая аппаратура, экстракция является центральным этапом, определяющим производственный успех.

В современном фитохимическом производстве используются различные приемы экстрагирования, но, в основном, это мацерация, перколяция и реперколяция в различных комбинациях.

Цель наших исследований состояла в совершенствовании технологии экстрактов корневищ и корней родиолы розовой, цветков липы сердцевидной и травы астрагала эспарцетного жидких.

Материалы и методы исследования. Процесс экстракции действующих веществ из растительного материала представляет собой сложный комплекс различных физи-

ко-химических процессов с преобладанием диффузии, растворения, вымывания. Для оптимизации этого процесса необходимо было изучать влияние ряда факторов. Этот вопрос нашел достойное отражение в работах Пятигорских технологов – проф. И.А. Муравьева, проф. В.Д. Пономарева, проф. Ю.Г. Пшукова [6, 7, 8].

Ими подробно исследованы основные способы экстракции – мацерация и реперколяция; разработаны необходимые теоретические позиции и выполнены многочисленные конкретные практические наработки на различных моделях лекарственного растительного сырья, которые позволили выдать рекомендации для производств в отношении различных объектов – настоек, экстрактов [9, 10].

Мацерация (macerare-намачивать) – наиболее древний вариант экстракции, который позволяет менять время настаивания и соотношения сырья и экстрагента. Метод длительный, а извлечение содержит большое количество сопутствующих компонентов, обременяющих вытяжку; выход действующих, целевых веществ не всегда высок. Однако этот способ достаточно « мобилен », его можно легко и разнообразно модифицировать, в настоящее время он не утратил своего значения.

Что касается перколяции (percolare – обесцвечивать), то этот способ относится к динамическим, имеет много положительных

свойств: сравнительная быстрота, полнота истощения сырья. В настоящее время он также используется в производстве, особенно в интенсифицированных его вариантах.

Общие особенности охарактеризованных способов экстракции заключаются в том, что они основаны на принципах стремления к достижению равновесия извлекаемых веществ в общей массе экстрагента, вводимого в контакт с растительным сырьем при медленной молекулярной диффузии. При этом растительное сырье используется относительно крупноизмельченным (размер частиц от 3 до 10 мм). В процесс включено емкостное оборудование – перколяторы. Процессы экстракции, в целом, длительны, а степень истощения сырья находится в пределах 50-55%. Профессором Пшуковым Ю.Г. был предложен способ ресурсосберегающей экстракции, который предполагает работу с измельченным растительным сырьем от 2,0 до 7,0 мм. Способ основан на увеличении эффективности экстракции, с учетом математической зависимости между соотношением внешнего и внутреннего соков, величиной эффективности экстрагирования и числом ступеней экстракции. Данный метод позволяет подбирать условия экстраги-

рования для любого вида лекарственного растительного сырья [7, 11].

В расчетах используют технологические характеристики исследуемого лекарственного растительного сырья, которые были рассмотрены на примере корней и корневищ родиолы розовой, цветков липы сердцевидной, травы астрагала эспарцетного [12, 13, 14].

Определение технологических характеристик лекарственного растительного сырья необходимо для теоретических расчетов эффективности экстрагирования и выбора условий экстрагирования.

В момент завершения процесса набухания сырья, объем внутреннего сока обусловлен не только поглощенным экстрагентом, но и влагой сырья с экстрактивными веществами, которые растворены в данном экстрагенте. Определяемые технологические характеристики лекарственного растительного сырья: γ – насыпная масса сырья; F – коэффициент наполнения сухого сырья; Δ – коэффициент вытеснения сырья; ϕ – коэффициент наполнения набухшего сырья; K_n – коэффициент поглощения сырья; K – коэффициент образования внутреннего сока; Z – коэффициент увеличения объема при растворении экстрактивных веществ.

Таблица 1

Технологические характеристики корневищ и корней родиолы розовой, цветков липы сердцевидной и астрагала эспарцетного

Table 1

Technological characteristics of rhizomes and roots of rhodiola rosea, flowers of lime heart-shaped and astragalus sainfoin

Название экстракта	γ , г/см ³	F , см ³ /г	ϕ , см ³ /г	Δ , см ³ /г	Коэффициент K_n , см ³ /г	Коэффициент K , см ³ /г	Коэффициент Z , см ³ /г
1	2	3	4	5	6	7	8
Родиолы розовой	0,308±0,01	2,58±0,02	1,428±0,016	0,9±0,006	1,61±0,010	1,95±0,020	0,700
Липы сердцевидной	0,301±0,02	2,48±0,01	1,520±0,011	0,8±0,003	2,62±0,010	1,98±0,010	0,707±0,020
Астрагала эспарцетного	0,411±0,03	1,78±0,11	1,320±0,019	0,8±0,003	1,96±0,020	1,85±0,030	0,81 ±0,01

Результаты и их обсуждение. Предложен оптимальный режим экстрагирования сырья методом ресурсосберегающей технологии.

Экстракцию проводили 40 % этиловым спиртом для получения экстракта родиолы розовой и 70 % этиловым спиртом для экстрактов астрагала эспарцетного и липы сердцевидной. Время экстракции составляет 4 суток, в сравнении с 6 сутками, требующимися при реперколяции с закон-

ченным циклом; при этом выход действующих веществ увеличивается на 30-35 %.

Теоретический расчет для получения экстракта в батарее с числом диффузоров от 3 до 6 и рассчитанных значениях η позволил определить степень истощения лекарственного растительного сырья в процентах S .

Расчет эффективности реперколяции имеют вид

Интервал значений η от 0,3333 до 1,0

$$S = 54,425\eta - 2,496 + \frac{\eta \lg n}{0,00711 - 0,001375\eta + 0,017031\eta^2} \quad (1)$$

Интервал значений η от 1, до 2,0

$$S = 51,06 + 94,5988 \lg n + \frac{\lg n}{0,025227 - 0,015469\eta + 0,012653\eta^2} \quad (2)$$

где $h = y/k$ – коэффициент распределения веществ;

n – число диффузоров в батарее;

y – отношение объема извлечения, получаемого как готовая продукция, к массе сырья, см³/г.

Получение жидких экстрактов проводили экстрагированием в батарее из 4-х диффузоров. При этом извлечение, полученное из 1-го диффузора, направляли во второй, а извлечение, полученное из 2-го диффузора, направляли в третий и в четвертый экстракторы. Более богатое экстрактивными веществами извлечение встречалось со свежим лекарственным растительным сырьем, по принципу противотока. После ввода в работу батареи отбор порций готовой продукции проводили из четвертого диффузора, а хвостовые диффузоры выводили из работы.

Перерывы для настаивания, как при вводе батареи диффузоров, так и в период

съемы готовой продукции составили 8 и 16, 8 и 16 пар часов. При этом учитывали односменную работу фармацевтических фабрик.

Результаты данных исследований легли в основу разработки технологической схемы, которая представлена на рисунке 1.

Производство экстрактов жидких по ресурсосберегающей технологии позволяет повысить эффективность процесса экстракции [15, 16, 17] до 78 %, выход действующих веществ до 90 % и получить концентрированные извлечения – до 30% по сухому остатку. Результаты расчетов фактической эффективности (S_f) представлены в таблице 2.

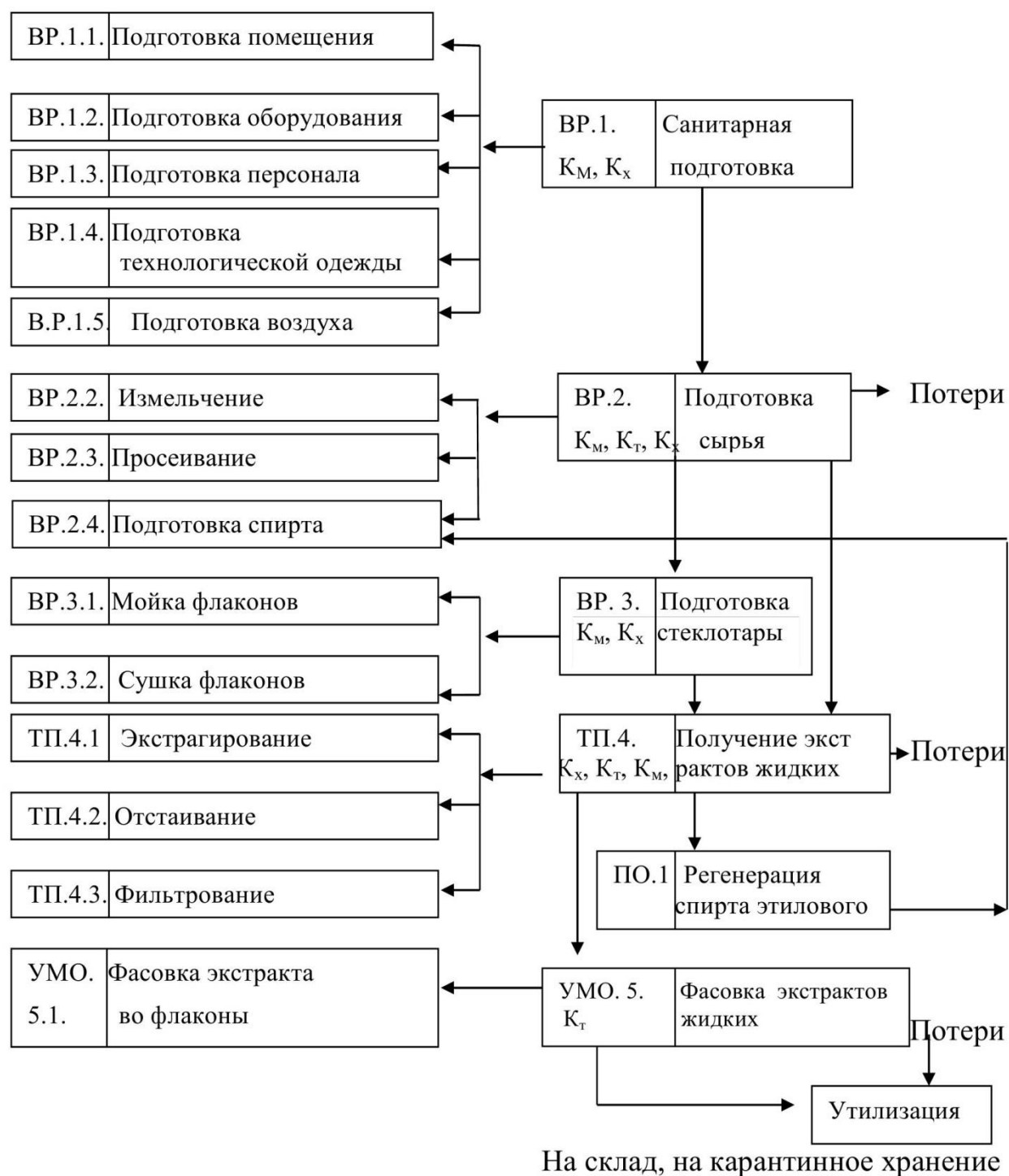


Рис. 1. Технологическая схема получения экстрактов жидких
Fig. 1. The technological scheme of obtaining extracts of liquid

Таблица 2

Результаты сравнительной оценки эффективности экстрагирования

Table 2

The results of a comparative evaluation of extraction efficiency

Наименование экстракта	№ серии сырья	Содержание БАВ в сырье, %	Предлагаемый способ N = 4		Промышленный способ N = 3	
		β	S_{ϕ}	S	S_{ϕ}	S
1	2	3	4	5	6	7
Родиолы розовой	1	(салидрозид) 1,26	68,76	70,55	44,86	46,81
	2	1,40	69,96	71,02	45,59	47,86
	3	1,29	69,22	71,62	45,60	47,80
Липы сердцевидной	1	(флавоноиды) 0,436	68,76	71,55	44,86	46,81
	2	0,446	69,96	72,72	45,59	47,86
	3	0,439	70,00	72,09	44,85	47,33
Астрагала эспарцетного	1	(полифенолы) 0,821	73,36	75,85	48,35	49,55
	2	0,833	73,23	74,75	47,55	49,75
	3	0,8015	72,70	74,29	48,05	50,15

Анализ данных таблицы 2 показывает, что S_{ϕ} при получении экстрактов жидких в батарее из четырех диффузоров составляет: родиолы розовой 70 %, липы сердцевидной 69,57 % и астрагала эспарцетного – 73,09 %, что близко к теоретической – 71,40 %, 72,12 % и 74,96 % соответственно.

Введение изученного способа в практику фитопроизводств позволило усовершенствовать технологию целого ряда известных и востребованных лекарственных препаратов, например, экстрактов родиолы розовой, астрагала эспарцетного, липы сердцевидной [18, 19, 20, 21].

Заключение. Предложенный вариант экстракции широко используется в дальнейших научных исследованиях. В этом отношении перспективными оказались исследования и разработка технологии экстрагирования биологически активных веществ из фитосырья по ресурсосберегающей технологии, что дает возможность сократить продолжительность процесса получения жидких экстрактов, повысить качество выхода готового продукта.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Веселова Д.В., Степанова Э.Ф. Использование в современной медицине цветков липы сердцевидной // Фармация и фармакология. 2016. Т. 4, N 1(14). С. 4-7. DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-1(14)-4-9
2. Воронина Т.А., Басевич А.В. Разработка технологии сухого экстракта кипрея узколистного травы свежесушенной и ферментированной // Мат. всеросс. науч.-практич. конф. Пятигорск, 2017. С. 20-24.
3. Изучение фармакологической активности экстракта астрагала эспарцетного / А.М. Темирбулатова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2015. N 2-3. С. 244-249.
4. Зарубина Н.В., Попов Д.М. Аминокислотный состав цветков и листьев липы // Фармация. 2012. N 5. С. 21-23.
5. Кайшева Н.Ш., Габриелян Н.В., Хачатрян М.М. Роль аптечных организаций в качественном обеспечении населения лекарственными средствами растительного происхождения // Материалы науч. программы 12 спец. выставки Аптека 2005 (25-28 окт.). Москва, 2005. С. 99-100.
6. Препараты на основе экстрактов липы: получение и фармакологическая ак-

тивность / Т.М. Медведева [и др.] // Фармация. 2011. N 7. С. 34-36.

7. Разработка ресурсосберегающей технологии и норм качества на жидкие экстракты / Ю.Г. Пшуков [и др.] // Фармацевтическая наука и практика в новых социально-экономических условиях: Научные труды, Т. 36, часть 1. Москва, 1997. С. 157-161.

8. Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье / А.А. Сорокина [и др.] // Фармация. 2010. N 3. С. 3-4.

9. Сампиев А.М., Давитавян Н.А., Староверова В.В. Разработка технологии получения сухого экстракта из травы стальника полевого // Кубанский научный медицинский вестник. 2017. N 1(162). С. 124-127.

10. Denisov E.T., Afanasev I.B. Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology. Boca Raton: Taylor&Francis, 2005. P. 982.

11. Шаталова Т.А. Разработка ресурсосберегающей технологии и норм качества экстракта левзеи жидкого: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Пятигорск, 1996. 23 с.

12. Изучение антимикробной активности суммарных субстанций астрагалов эспарцетного и нутового / Н. Н. Гужва [и др.] // Материалы 49-й регион. конф. по фармации, фармакологии и подготовке кадров Пятигор. фармац. ин-та. Пятигорск, 1994. С. 164.

13. Кумарины, фенолкарбоновые кислоты А. Сисер / Н.Н. Гужва [и др.] // Химия природных соединений. 1992. N 6. С. 714.

14. Лежнева Л.П., Темирбулатова А.М., Хаджиева З.Д. Технологическое обоснование и нормирование качества бадана экстракта сухого и мази на его основе // Международный научный журнал «International science project». 2018. Ч. 1, N 13. С. 12-17.

15. Буркова Е.А., Хабибрахманова В.Р., Канарский А.В. Антиоксидантные свойства экстрактов цветков липы сердцевидной (*Tilia cordata*) // Вестник технологического университета. 2015. Т. 18, N 16. С. 38-40.

16. Способ получения полифенолов, обладающих гепатозащитной, желчегонной, антиоксидантной и аналептической актив-

ностью / Н.Н. Гужва [и др.] // Патент на изобретение RU 2018315.

17. Попов Д.М., Зарубина Н.В. Сравнительное качественное и количественное определение углеводов в цветках и листьях липы сердцевидной // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013. N 3. С. 50-53.

18. Куркин В.А., Куркина А.В., Авдеева Е.В. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений // Фундаментальные исследования. 2013. N 11-9. С. 1897-1901.

19. Рудакова Ю.Г., Попова О.И. Дубровник белый (*Teucrium polium* L.) и перспективы его применения: монография. Пятигорск: РИА-КМБ, 2017. 124 с.

20. Serafini M., Peluso I., Raguzzini A. Flavonoids as anti-inflammatory agents // Proceedings of the Nutrition Society. 2010. Vol. 69(3). P. 273-278. DOI: <https://doi.org/10.1017/S002966511000162X>

21. Vidal J.P., Richard H. Characterization of volatile compounds in linden blossoms *Tilia cordata* Mill. // Flavour and Fragrance Journal. 1986. Vol. 1(2). P. 57-62. DOI: <https://doi.org/10.1002/ffj.2730010204>

References

1. Veselova DV, Stepanova EF. [The use of *tilia cordata* flowers in contemporary medicine]. Pharmacy & pharmacology. 2016;4(1(14)):4-7. Russian. DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-1(14)-4-9

2. Voronina TA, Basevich AV. [Development of technology of dry extract of narrow-leaved grass fresh-dried and fermented *kireya*]. In: Proceedings of the all Russia scientific practical Conf. Pyatigorsk; 2017:20-24. Russian.

3. Temirbulatova AM, Galkin MA, Khromtsova EN, et al. [Study of pharmacological activity of the extract of *Astragalus onobrychis*]. Modern problems of science and education. 2015;2-3:244-249. Russian.

4. Zarubina NV, Popov DM. [Amino acid composition of lime (*Tilia*) flowers and leaves]. Farmatsiya. 2012;5:21-23. Russian.

5. Kaysheva NSh, Gabrielyan NV, Khachatryan MM. [The role of pharmacy organizations in the quality of the population of herbal medicines]. Proceedings of Materials scientific. pro-

grams 12 specials. Exhibition Pharmacy 2005 (October 25-28). Moscow; 2005:99-100. Russian.

6. Medvedeva TM, Sorokin VV, Kaukhova IE, et al. [Preparations based on linden extracts: preparation and pharmacological activity]. *Farmatsiya*. 2011;7:34-36. Russian.

7. Pshukov YG, Shatalova TA, Guzhva NN, et al. [Development of resource-saving technology and quality standards for liquid extracts]. In: [Pharmaceutical science and practice in new socio-economic conditions]. Proceedings of Scientific works, Vol. 36, Part 1. Moscow; 1997:157-161. Russian.

8. Sorokina AA, Molchan NV, Rudakova IP, et al. [Determination of the content of extractive substances in medicinal plant raw materials]. *Farmatsiya*. 2010;3:3-4. Russian.

9. Sampiev AM, Davitavyan NA, Staroverova VV. [Development of technology for dry extract of restharrow]. *Kuban Scientific Medical Journal*. 2017;1(162):124-127. Russian.

10. Denisov ET, Afanasev I. Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology. Boca Raton: Taylor&Francis; 2005:982.

11. Shatalova TA. [Development of resource-saving technology and quality standards of the extract of liquid Leuzea] [dissertation]. Pyatigorsk; 1996. Russian.

12. Guzhva NN, Pshukov YuG, Kolpak AM, et al. [Study of the antimicrobial activity of the total substances of astragalus, esparcetum and chickpeas]. Proceedings of the 49th region. conf. on pharmacy, pharmacology and training Pyatigor. pharmats. Inst. Pyatigorsk; 1994:164. Russian.

13. Guzhva NN, Dzhumyko SF, Kolpak AM, et al. [Coumarins, phenolcarboxylic acids A. Cicer]. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*. 1992;6:714. Russian.

14. Lezhneva LP, Temirbulatova MA, Hadjiev ZD. [Technological substantiation and rationing of the quality of the bergenia dry extract and ointment based on it]. *International scientific journal «International science project»*. 2018;1(13):12-17. Russian.

15. Burkova EA, Khabibrakhmanova VR, Kanarsky AV. [Antioxidant properties of extracts of linden heart-shaped flowers (*Tilia cordata*)]. *Bulletin of the University of Technology*. 2015;18(16):38-40. Russian.

16. Guzhva NN, Pshukov YG, Sarkisov LS, et al. [A method of obtaining polyphenols with hepatoprotective, choleretic, antioxidant and analeptic activity]. Patent for invention RUS 2018315. Russian.

17. Popov DM, Zarubina NV. [Comparative qualitative and quantitative determination of carbohydrates in flowers and leaves of the heart-shaped linden]. *Razrabotka i registraciya lekarstvennyh sredstv*. 2013;3:50-53. Russian.

18. Kurkin VA, Kurkina AV, Avdeeva EV. [Flavonoids as Biologically Active Compounds of Medicinal Plants]. *Fundamental'nyye issledovaniya*. 2013;11-9:1897-1901. Russian.

19. Rudakova YuG, Popova OI. [White Dubrovnik (*Teucrium polium* L.) and prospects for its use: a monograph]. Pyatigorsk: RIA-CMS; 2017. Russian.

20. Serafini M, Peluso I, Raguzzini A. Flavonoids as anti-inflammatory agents // *Proceedings of the Nutrition Society*. 2010;69(3):273-278. DOI: <https://doi.org/10.1017/S002966511000162X>

21. Vidal JP, Richard H. Characterization of volatile compounds in linden blossoms *Tilia cordata* Mill. *Flavour and Fragrance Journal*. 1986;1(2):57-62. DOI: <https://doi.org/10.1002/ffj.2730010204>

Информация об авторах

Анна Михайловна Темирбулатова, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры биологии и физиологии с курсами биологической химии и микробиологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет».

Элеонора Федоровна Степанова, доктор фармацевтических наук, академик РАЕ, профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», E-mail: EFStepanova@yandex.ru.

Дарья Валерьевна Веселова, ассистент кафедры общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», аспирант третьего года обучения по направлению подготовки 33.06.01 Фармация, образовательная программа: Технология получения лекарств, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», E-mail: d_veselova@mail.ru, ORCID: 0000-0002-1199-7550.

Лариса Петровна Лежнева, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии, Пятигорский

медико-фармацевтический институт – филиал
ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный
медицинский университет».

Information about the authors

Anna M. Temirbulatova, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Senior Lecturer of the Department of Biology and Physiology with courses in biological chemistry and microbiology, Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute, Branch of Volgograd Medical State University.

Eleonora F. Stepanova, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Academician of the Russian Academy of Natural Sciences, Professor of the Department of Pharmaceutical Technology with a course of medical biotechnology, Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute, Branch of Volgograd Medical State University, E-mail: EFStepanova@yandex.ru;

Daria V. Veselova, Assistant of the Department of Public Health, Health and Medical History, Kuban State Medical University, third-year Postgraduate Student in the direction of training 33.06.01 Pharmacy, educational program: Technology of obtaining drugs, Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute, Branch of Volgograd Medical State University, E-mail: d_veselova@mail.ru, ORCID: 0000-0002-1199-7550.

Larisa P. Lezhneva, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Senior Lecturer of the Department of Pharmaceutical Technology with a course in medical biotechnology, Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute, Branch of Volgograd Medical State University.

Статья поступила в редакцию 18 сентября 2018 г.
Receipt date 2018 September 18.

Статья принята к публикации 24 декабря 2018 г.
Accepted for publication 2018 December 24.

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА CLINICAL MEDICINE



УДК 618-1;577.25

DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-7

А.Е. Андреев^{1,2,3},
Т.С. Клейменова^{1,3},
А.О. Дробинцева^{1,3},
В.О. Полякова^{1,4,5},
И.М. Кветной^{1,4}

Сигнальные молекулы, вовлеченные в образование новых нервных окончаний при эндометриозе (обзор)

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта»,
Менделеевская линия, д. 3, г. Санкт-Петербург, 199034, Российская Федерация

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого»,
ул. Политехническая, д. 29, г. Санкт-Петербург, 195251, Российская Федерация

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»,
ул. Литовская, д. 2, г. Санкт-Петербург, 194100, Российская Федерация

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный университет»,
Университетская набережная, д. 7-9, г. Санкт-Петербург, 199034, Российская Федерация

⁵ Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего
образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова»,
ул. Академика Лебедева, д. 6, г. Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация

Автор для переписки: А.Е. Андреев (alexander_597@mail.ru)

Аннотация

Актуальность: Механизм развития болевого синдрома при эндометриозе имеет гетерогенный характер. Установлено, что в недавно образовавшихся эндометриоидных имплантах идут процессы неонейрогенеза, заключающиеся в формировании малых сенсорных волокон с повышенной ноцептивной чувствительностью. Результатом этого становится повышенная болевая чувствительность пациенток, которая в совокупности с воспалительными процессами может приводить к развитию хронической тазовой боли. **Цель исследования:** Собрать и структурировать информацию, касательно молекулярных маркеров, прямо или косвенно участвующих в сигнальном каскаде фактора роста нервов. **Материалы и методы:** В обзор включены современные данные зарубежных и отечественных статей, найденные в Pubmed по данной теме. **Результаты:** В настоящем обзоре рассмотрены молекулярные механизмы работы в норме и при патологии фактора роста нервов, рецепторов к андрогену, ARID1A и периферина. Данные молекулярные маркеры участвуют в передаче сигнала по молекулярному каскаду, индицирующему образование новых нейронов с последующим развитием болевого синдрома при эндометриоидной болезни. **Заключение:** В обзоре охарактеризованы еще недостаточно исследованные маркеры, полученная информация должна способствовать лучшему пониманию

процессов неонейрогенеза при эндометриозе для улучшения диагностики данного заболевания и лечения хронической тазовой боли.

Ключевые слова: фактор роста нервов; рецептор к андрогену; ARID1A; периферин; эндометриоз; хроническая тазовая боль; неонейрогенез

Информация для цитирования: Сигнальные молекулы, вовлеченные в образование новых нервных окончаний при эндометриозе (обзор) / А.Е. Андреев [и др.] // Научные результаты биомедицинских исследований. 2019. Т. 5, № 1. С. 94-107 [Andreev AE, Kleimenova TS, Drobintseva AO, et al. Signal molecules involved in the formation of new nerve endings in endometriosis (review). Research Results in Biomedicine. 2019;5(1):94-107 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-7

Alexander E. Andreev^{1,2,3},
Tatyana S. Kleimenova^{1,3},
Anna O. Drobintseva^{1,3},
Victoriya O. Polyakova^{1,4,5},
Igor M. Kvetnoy^{1,4}

Signal molecules involved in the formation of new nerve endings
in endometriosis (review)

¹ Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine named after D.O. Ott,
3 Mendeleevskaya Line, St. Petersburg, 199034, Russia

² Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University,
29 Polytechnicheskaya St., St. Petersburg, 195251, Russia

³ St. Petersburg State Pediatric Medical University,
2 Litovskaya St., St. Petersburg, 194100, Russia

⁴ St. Petersburg State University,
7-9 Universitetskaya Emb., St. Petersburg, 199034, Russia

⁵ Military Medical Academy named after S.M. Kirov,
6 Academician Lebedev St., St. Petersburg, 194044, Russia

Corresponding author: Alexander E. Andreev (alexander_597@mail.ru)

Abstract

Background: The mechanism of the development of pain syndrome in endometriosis is heterogeneous. The study has been established that in the recently formed endometriotic implants there are neoneurogenesis processes, which consist in the formation of small sensory fibers with increased sensory sensitivity. This results in an increased pain sensitivity of patients, which, together with inflammatory processes, can lead to the development of chronic pelvic pain. **The aim of the study:** To collect and structure information regarding molecular markers directly or indirectly involved in the NGF signaling cascade. **Materials and methods:** The review includes modern data of foreign and domestic articles on this topic found in Pubmed. **Results:** This review examines the molecular mechanisms of work in healthy patients and in the pathology of the nerve growth factor, the androgen receptor, ARID1A, and peripherin. These molecular markers are involved in the signal transmission through the molecular cascade, which indicates the formation of new neurons, followed by the development of pain syndrome in endometriosis. **Conclusion:** In the review, there are still insufficiently studied markers, whose study is of interest for studying this issue. The information obtained should promote a better understanding of neo-neuronal processes in endometriosis to improve the diagnosis of this disease and to treat chronic pelvic pain.

Keywords: nerve growth factor; androgen receptor; ARID1A; peripherin; endometriosis; chronic pelvic pain; neurogenesis

Введение. Эндометриоз – это гинекологическое заболевание, при котором клетки внутреннего слоя стенки матки разрастаются за его пределы [1]. В структуре гинекологической заболеваемости неуклонно растет доля эндометриоза, причем, за счет тяжелых сочетанных форм с поражением нескольких органов и систем.

Отсутствие единой классификации определяет трудности диагностики как ранних, так и запущенных форм данной патологии. Высокая частота рецидивов после хирургического лечения, локализация процесса не только в репродуктивных органах, а также возможная опухолевая трансформация очагов эндометриоза определяют приоритет исследований, направленных на изучение молекулярно-клеточных механизмов его развития, и поиск мишеней для разработки таргетной медикаментозной терапии, выработки четкого регламента диагностики, оценки прогноза и клинических рекомендаций [2].

Нередко, развитие эндометриоза сопровождается развитием синдрома хронической тазовой боли. Данная патология приносит огромный вред пациенткам, нарушая их психоэмоциональное состояние. Так, 55,6% пациенток с эндометриозом имеют неустойчивое настроение, раздражительность, эмоциональную лабильность, повышенную тревожность, фобии. У 12,3% отмечается бессонница, ипохондрия, истерия и, в 9,3% процентах случаев отмечается депрессия [3].

Механизм развития болевого синдрома при эндометриозе имеет гетерогенный характер. В нем сочетаются нарушение структуры нервов вследствие инвазии эндометриоидных клеток, воспалительные и рубцово-спаечные процессы. По многочисленным экспериментам, поставленным на животных моделях [4, 5, 6], было установлено, что в новообразовавшихся эндометриоидных имплантатах идут процессы неонейрогенеза, заключающиеся в формировании малых сенсорных волокон с повышенной ноцептивной чувствительностью. Результатом этого становится

повышенная болевая чувствительность пациенток, которая в совокупности с воспалительными процессами может приводить к развитию хронической тазовой боли [5].

Важная роль в процессах неонейрогенеза принадлежит нейротрофинам, белкам, отвечающим за жизнеспособность нервных клеток и их рецепторов. К нейротрофинам, активно участвующих в росте нервов *de novo* относят фактор роста нервов (NGF), BDNF (фактор роста нервов головного мозга), нейротрофины (NT)-3/4/5/6. Сейчас они активно изучаются учеными, как маркеры, предполагаемо, отвечающие за выраженность болевого синдрома при эндометриоидной болезни, как возможные терапевтические мишени для снижения боли при эндометриозе [7].

Целью настоящего обзора является собрать и структурировать информацию, касательно молекулярных маркеров, прямо или косвенно участвующих в сигнальном каскаде NGF. В обзоре охарактеризованы еще плохо описанные маркеры, чье исследование представляет интерес для изучения данного вопроса. Полученная информация должна способствовать лучшему пониманию процессов неонейрогенеза при эндометриозе для улучшения диагностики данного заболевания и лечения хронической тазовой боли.

1. Фактор роста нервов и его рецепторы

Фактор роста нервов (NGF) – это гликопротеин с молекулярной массой 13250 D, содержащий в своем составе 118 аминокислот. Нейротрофины представляют собой семейство структурно и функционально связанных гомодимерных белков, включая NGF, нейротрофический фактор мозга (BDNF), нейротрофин-3 (NT-3), нейротрофин-4/5 (NT-4/5) и нейротрофин -6 (NT-6) [8].

Основными функциями нейротрофинов являются регуляция процессов пролиферации, дифференцировки, миелинизации, роста аксонов, апоптоза, а также

поддержание выживаемости центральных и периферических нейронов [9]. Помимо этого, NGF участвует в образовании синапсов и регуляции синаптической пластичности и других важных иммуно-эндокринологических процессах, например, выживаемости лимфоцитов памяти [8] или перенос липидов [10].

После синтеза происходит сортировка, которая регулируется эффективностью обработки предшественника протеазой (MMP-3, MMP-7) в конститутивном или регулируемом секреторном пути. Про-нейротрофины, также, как и другие пептиды, биологически активны и высвобождаются путем расщепления, что указывает на то, что жесткая регуляция расщепления важна для нейрональных функций. В настоящее время известно, что про-NGF может взаимодействовать с теми же рецепторами, что и сам NGF, активируя тем самым определенные сигнальные каскады или апоптоз [9].

В своей конечной форме NGF представляет собой комплекс (7S-NGF) из трех субъединиц – α , β , γ . α -субъединица, биологически не активна, однако, может принимать участие в ингибировании перехода про-NGF в NGF; β -это высокоактивная специфичная протеаза, определяющая биологическую активность NGF. Функция γ -субъединицы до конца не ясна. Вместе с тем, известно, что она обладает собственной аргинин-специфической протеолитической активностью, структурно гомологична трипсину и принимает участие в протеолитическом превращении про-NGF. Этот комплекс содержит по две копии каждого компонента и стабилизирован двумя ионами цинка [11, 12].

NGF, образовавшийся из про-NGF, транспортируется вдоль аксона и накапливается в синаптических пузырьках, расположенных на внутренней поверхности синаптической мембраны. Выделившийся из клетки NGF действует аутокринно или паракринно путем активации специфических для него рецепторов [9].

Свое действие фактор роста нервов оказывает через специфические рецепторы, TrcA и p75. TrcA рецептор является членом

VI класса семейства тирозин-киназных рецепторов. Помимо него, к этому классу принадлежит рецептор TrcB для BDNF и NT-4/5, и TrcC для NT-3 [13].

В зависимости от молекул посредников, через которые пойдет передача сигнала, взаимодействие нейротрофинов с рецептором может приводить к: дифференцировке нейрональных клеток, выживаемости и росту нейронов, поддержанию синаптической пластичности. Нейротрофины играют ключевую роль в процессах нейродегенерации и нейрорегенерации в периферической нервной системе [13]. Также, важно отметить, что в нервной системе секреция нейротрофинов увеличивается после травмы, что указывает на их ключевую роль в регенерации аксонов [9].

В результате взаимодействия p75NTR с лигандом активируются сигнальные пути, наиболее важными из которых являются Ask-JNK-опосредованный, сфингомиелин-опосредованный, NADE-каспаза опосредованный сигнальные пути. Все эти сигнальные пути являются проапоптатическими, за исключением сфингомиелин-опосредованного, в процессе которого экспрессируется сфингозин-1-фосфат (SIP), который отвечает за гены клеточной выживаемости, тем самым, в некоторых случаях, блокируя апоптоз. [13].

За последние 5 лет было выполнено несколько работ, по изучению экспрессии NGF как в норме, так и при эндометриозе различных форм и локализаций. Как правило, исследовался перитонеальный эндометриоз или глубокий эндометриоз в области маточно-крестовых связок, так как именно эти виды данного заболевания чаще всего сопровождаются болевым синдромом.

В 2013 году, Кайитани и др. [14] исследовали ткань, взятую у пациенток репродуктивного возраста с перитонеальным эндометриозом (8 человек) и эндометриозом яичников (19 человек) и перитонеальную жидкость, взятую у 68 пациенток с эндометриозом. В процессе исследования ученые установили, что у пациенток с эндометриозом уровень NGF выше, чем у здоровых женщин. Экспрессия NGF коррелировала с выраженностью

болевого синдрома у пациенток, но не зависела от стадии заболевания, причем, исследователям встретились несколько женщин в контрольной группе, имеющих высокий уровень экспрессии фактора роста нервов. Предположили, что могла иметь место дополнительная экспрессия NGF тучными клетками и макрофагами в ответ на внешние факторы.

Пенг и др. [15] попытались изучить связь между экспрессией фактора роста нервов и его рецептора с развитием глубокой диспареунии у женщин больных эндометриозом. В процессе эксперимента был использован материал, взятый у женщин репродуктивного возраста ($n=17$), имеющих эндометриозные импланты в области маточно-крестовых связок и контрольная группа. Была установлена повышенная экспрессия NGF в строме, эпителии и перитонеальной жидкости. Экспрессия в строме и эпителии коррелировала с плотностью нервных волокон и выраженностью болевого синдрома. Также была обнаружена повышенная концентрация рецептора TrkA в эпителии и строме, напрямую связанная с выраженностью болевого синдрома. Авторами данной статьи была выдвинута гипотеза о том, что NGF влияет на экспрессию COX-2 через транскрипционный фактор AP-1. А COX-2, в свою очередь, индуцирует экспрессию PGE-2, который связан с болевым синдромом. Данная гипотеза была подтверждена путем поочередного воздействия на эндометриозные клетки фактором роста нервов и ингибитором TrkA. В первом случае, экспрессия COX-2 возрастала, во втором, наоборот, снижалась. Вместе с ним менялась и экспрессия PGE-2. Деванто и др. [16] исследовали экспрессию NGF, TrkA и NGFR α 58 у пациенток репродуктивного возраста с перитонеальным (20 человек) и глубоким (22 человека) эндометриозом различной локализации. Ученые обнаружили высокую экспрессию всех трех маркеров, причем, экспрессия NGF была достоверно больше при перитонеальном эндометриозе, как в железистом, так и в стромальном компоненте по сравнению с

глубоким эндометриозом. Не было обнаружено корреляции между экспрессией маркеров и плотностью нервных волокон при обоих видах эндометриоза, что противоречит данным предыдущего эксперимента.

Таким образом, фактор роста нервов вовлечен в патогенез эндометриозной болезни, вызывая образование нервных окончаний и повышая их ноцицептивную чувствительность, что приводит к формированию стойкого болевого синдрома. Однако, этим его влияние не ограничивается.

В 2016 году, в журнале "Molecular Human Reproduction" была опубликована статья [17], в которой говорилось, о том, что нейротрофины влияют на созревания фолликулов в яичниках. В частности, NGF и TrkA-рецептор способствуют пролиферации фолликулярных клеток, также авторами было высказано предположение, что NGF может быть связан с овуляцией.

Существует множество работ, в которых авторы, пытаясь купировать болевой синдром при эндометриозе, воздействуют на экспрессию фактора роста нервов и его молекулярные каскады. Например, часть исследований была направлена на изучения использования низкомолекулярных, не пептидных агонистов TrkA [18]. Суть метода заключалась в том, что низкомолекулярные TrkA-агонисты конкурировали с NGF за связь с TrkA-рецепторами, ингибируя работу молекулярного каскада фактора роста нервов.

Чен и др. [19] предложили использование siRNA- β -NGF для воздействия на процессы неонейрогенеза при эндометриозе. Свое исследование они проводили на крысах. Опыт показал, что при использовании siRNA- β -NGF происходит снижение экспрессии β -NGF и TrkA, а также маркеров сенсорных и симпатических нервов, RP, SP и NPY, соответственно.

Несмотря на большое количество работ, посвященных фактору росту нервов, данный вопрос требует дополнительного изучения. Большинство исследований было

направленно на изучение экспрессии исключительно NGF и TrkA, между тем оставляя, в большинстве своем, без внимания маркеры смежных молекулярных путей, например, PGE-2 или рецепторы стероидных гормонов. Для лучшего понимания проблемы необходимо проанализировать совокупность молекулярных маркеров, связанных с NGF-путем, их расположение и концентрацию друг относительно друга, а также их зависимость от различных параметров – фазы менструального цикла, возраста больных, уровня боли, степени бесплодия и т.д.

2. Рецептор к андрогену

Главными представителями андрогенов у женщин являются дегидроэпиандростерон-сульфат, дегидроэпиандростерон, андростендион, тестостерон и 5 α -дигидротестостероном (5 α -ДГТ). Циркулирующий в крови тестостерон у женщин функционирует как прогормон, способный к конверсии в 5 α -ДГТ или 17 β -эстрадиол в тканях-мишенях. Тестостерон так же может синтезироваться в тканях-мишенях. Он способен оказывать как прямое действие на органы-мишени, в которых экспрессируются рецепторы к тестостерону, к примеру, для синтеза мозговых нейростероидов, обеспечивающих либидо и болевую перцепцию, так и опосредованное влияние через трансформацию в 5 α -ДГТ, регулирующий метаболизм волосяных фолликулов, рост волос и синтез кожного сала [20].

Воздействие андрогенов на клетки мишени происходит следующим образом: андроген диффундирует клетку по градиенту концентрации в виде тестостерона. Затем, под действием 5 α -редуктазы (5 α -P), происходит превращение тестостерона в 5 α -дигидротестостерон. 5 α -ДГТ взаимодействует с определенным участком молекулы андрогенного рецептора (AR), которая в цитоплазме находится в составе мультибелкового комплекса. Происходит ряд физико-химических преобразований этого мультибелкового комплекса и самой молекулы AR. Затем, в результате этих преобразований происходит диссоциация андрогенного рецептора из мультибелкового комплекса и его

гомодимеризация. Комплекс AR-лиганд перемещается в ядро и связывается с определенным, андроген-чувствительным, элементом ДНК, приводя к специфическому ответу в виде экспрессии определенных генов и синтеза специфических белков [21].

Андрогеновые рецепторы у женщин находятся в клетках подавляющего большинства тканей, включая молочные железы, сердце, кровеносные сосуды, ЖКТ, легкие, головной и спинной мозг, периферические нервы, мочевого пузырь, уретру, матку, яичники, влагалище, кожу, костную ткань, костный мозг, синовиальные оболочки, мышечную и жировую ткани [22].

Известно несколько вариантов воздействия AR на пролиферацию и миграцию клеток [23]. Первым является действие AR в комплексе с Src тирозинкиназой. Последняя способствует клеточной пролиферации через активацию различных сигнальных путей, таких как PI3K, Raf, MAPK и т.д., также Src может влиять на адгезию и миграцию клеток. В норме этот белок является неактивным, однако, взаимодействие с AR его активирует, причем, такая активация становится более сильной в присутствии рецептора к эстрогену альфа. Данное воздействие было изучено на клетках MCF7 рака молочной железы.

Также AR может взаимодействовать с филамином А (FlnA). Этот белок регулирует адгезию и миграцию клеток, а также способен контролировать моторику нейронов. При связи с андрогенным рецептором он облегчает его транспорт в ядро, влияет на его транскрипционную активность и реакцию чувствительности к андрогену. Подобного рода взаимодействия были выявлены при изучении рака предстательной железы.

По данным литературы, экспрессия AR верифицирована в эндометрии у пациенток с эндометриозом, причем, в работе Fujimoto говорилось о том, что эстрогены могут индуцировать его экспрессию [24]. Как данный рецептор влияет на эндометриоз до сих пор остается неизвестным. Принято считать, что андрогены должны противодействовать

пролиферативному действию эстрогенов через соответствующие рецепторы, однако, этого не происходит, вследствие чего была выдвинута теория о гетерогенном воздействии различных факторов на работу андрогенового рецептора при эндометриозе [1, 25, 26, 27].

Была выявлена высокая частота нарушений, связанных с последовательностью CAG [28] в функциональном домене AF-1 рецептора к андрогенам на второй стадии эндометриоза. Вследствии чего идет нарушение взаимодействия AR с FlnA, которое играет важную роль в развитии и дифференцировки нейронов [23]. Патология такого рода, согласно проведенному Катияром и др. [29] геному анализу, может приводить к повышению вероятности развития рассеянного склероза у пациенток с эндометриозом.

Таким образом, дальнейшее изучение рецептора к андрогену может дать информацию касательно не только механизмов развития эндометриозной болезни и возможностях на нее воздействия, но и объяснить возникновение разного рода патологий нейрального характера при эндометриозе.

3. ARID1A

ARID1A – это АТ-богатый белок, кодирующийся геном ARID1A расположенным на хромосомном плече 1p. Данный белок относится к семейству SWI/SNF из 15 протеинов, которые содержат характерный ДНК-связывающий ARID-домен, содержащий 100 аминокислот. Подсемейство ARID1 содержит 2 члена, ARID1A и ARID1B, которые имеют 80% гомологии в отношении аминокислотного состава [30].

ARID1A присутствует преимущественно в ядре. Его экспрессия меняется во время клеточного цикла будучи самой высокой во время -G0 -G1 и значительно уменьшается в S-, M- и G2 фазах. ARID1A кодирует две изоформы – 2285 и 2086 аминокислот, хотя функциональное значение этих изоформ неясны. ARID1A посттрансляционно модифицируется путем ацетилирования по лизину и фосфорилирования серина/треонина, что потенциально

регулирует экспрессию белка или белок-белковые взаимодействия [31].

ARID1A взаимодействует со многими белками, участвующими в убиквитин-лигазовой машинерии (CUL2, ITC и т.д.), транскрипции (ER, AR, SOX2 и т.д.), модификации гистонов (HDAC1, HDAC2), ремоделировании хроматина (SWI/SNF комплексы), подавлении роста опухолей (p53), а также активации и репрессии различных внутриклеточных процессов (CARM1, SMAD2, SMAD3 и т.д.) [30].

Среди всех этих взаимодействий наиболее широко известным и изученным является связь ARID1A с комплексами ремоделирования хроматина SWI/SNF. Комплексы SWI / SNF представляют собой многокомпонентные белковые комплексы, которые используют энергию гидролиза АТФ для ремоделирования структуры хроматина [30, 31, 32].

Существует несколько путей ингибирования развития опухолей по средствам ARID1A. Данный белок может как подавлять деления паталогических клеток, блокируя их клеточный цикл или вызывая апоптоз, так и осуществлять защиту их ДНК, путем деактивации вновь синтезированных сестринских хроматид во время митоза и участия в репарации ДНК [33].

При эндометриозе была выявлена как полная, так и частичная потеря экспрессии ARID1A [34]. Было проведено множество исследований, направленных на изучения этого вопроса [34, 35]. Следует отметить, что значительное уменьшения уровня ARID1A наблюдалось вблизи эндометриозидных имплантатов, тогда как в отдалении от очага уровень экспрессии был выше. Установлено, что при эндометриозе наблюдаются различные мутации в гене экспрессии ARID1A, которые также наблюдались при развитии онкологических заболеваний женской репродуктивной системы [36]. Еще одной причиной нарушения экспрессии ARID1A могут являться реакции окислительного стресса, развивающиеся при эндометриозе за счет избыточного выделения железа при

кровотечениях и снижения экспрессии MnSOD [35].

Несмотря на наличие мутаций, связанных с озлакачиванием в гене ARID1A, данные о развитии рака при эндометриозе крайне мало. Общий процент рака при эндометриозе является низким даже в случае эндометриоза кишечника [35]. Предполагается, что для перехода эндометриоза в злокачественную опухоль должен сложиться ряд факторов. Так было показано, что существует корреляция мутаций в генах экспрессии ARID1A (46%-57% случаев), фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) (33%-44% случаев) и PTEN и развитием карциномы эндометрия [37, 38].

Также учеными было выдвинуто предположение о связи снижения экспрессии ARID1A при эндометриозе с возникновением бесплодия. Авторами был проведен эксперимент на мышах, который показал, что мыши имеющие стойкие нарушения экспрессии ARID1A, были бесплодны [39]. Это объяснялось тем, что при данном дефекте нарушается работа комплекса SWI/SNF, в результате чего происходят нарушения передачи сигналов от стероидных гормонов.

Таким образом, нарушение работы ARID1A является важным патогенетическим звеном развития эндометриоза и бесплодия при нем. Хотя по данной тематике имеется большое число научных статей, многие важные вопросы до сих пор остаются без четкого ответа. В частности, большинство авторов указывает на слишком маленькую выборку для генетического анализа и получившиеся вследствие этого противоречивые результаты [35, 37, 38, 39].

4. Периферин

Периферин (PRPH) представляет собой белок молекулярным весом 58 кДа, относящийся к белкам промежуточных нитей (IF) III типа. У взрослых PRPH широко экспрессируется в нейронах периферической нервной (PNS) системы, а также нейронах центральной нервной системы, имеющих периферические аксоны [40, 41]. Более широко этот белок экспрессируется у эмбрионов, где он был обнаружен в моторных, сенсорных и

вегетативных нейронах, а его экспрессия была связана с началом терминальной дифференцировки.

Для данного белка существует несколько изоформ различного молекулярного веса. Изоформа с весом 58 кДа является доминирующей изоформой (Per 58), а дифференциальное сращивание приводит к Per 45, Per 56, Per 28 и Per 61. Per 61 не встречается у человека, но может экспрессироваться у мыши [40, 41].

Высокий уровень экспрессии периферина во время развития нейронов и увеличение его уровня в отростках аксонов может свидетельствовать о том, что роль периферина заключается в определении направления роста аксонов [42]. Факт наличия повышенной экспрессии PRPH в нейронах периферической нервной системы и ЦНС после травмы может указывать на участия данного белка в процессах регенерации. Мыши с дефицитом PRPH не имеют явного фенотипического проявления, но их уровни интернексина IV типа увеличиваются и наблюдается значительное уменьшение немиелинизированных сенсорных аксонов. Эти данные указывают на роль периферина в развитии подмножества сенсорных нейронов. Недавно были идентифицированы Per 61-взаимодействия и взаимодействие с белком SNAP 25, взаимодействующим с белком (SIP30), что указывает на роль периферина в везикулярном трэкинге. Однако, точная функция периферина и его изоформ все еще неизвестна [40, 41].

Исследования *in vitro* показали, что экспрессия периферина индуцируется NGF, ингибирующим фактором лейкемии (LIF), интерлейкином-6 (IL-6) и фактором роста фибробластов (FGF). Было выяснено, что периферин может образовывать гетеромеры с белками нейрофиламентов (NF), фактически является четвертой субъединицей NF во взрослой PNS.

При эндометриозе происходит повышение экспрессии как самого PRPH [43], так и его гена [44]. В настоящий момент нет объяснений тому, почему это происходит, и каким образом это влияет на саму болезнь. Однако, данный маркер

широко применяется для выявления малых сенсорных волокон в эндометриоидных гетеротопиях.

Геоффреем и др. проведен эксперимент, в процессе которого в седалищный нерв крысы была вживлена эндометриоидная ткань. Хотя ученым и не удалось оценить уровень боли, развивающийся при этом у крыс, они обнаружили бурное иннервирование новообразованного эндометриоидного импланта аксонами малого диаметра. Аналогичный опыт был проведен в Эдинбурге [44], где ученые вживляли децидуальные эндометриоидные клетки в брюшину. Касательно наличия аксонов малого диаметра результаты были схожими.

Согласно литературным данным периферин отвечает за определение направления роста аксонов и участвует в их восстановлении после механических повреждений [40, 41]. При эндометриозе имеют место оба этих процесса, из-за чего PRPH может играть крайне важную роль в развитии болевого синдрома при этом заболевании, о чем свидетельствуют описанные выше исследования.

Также не стоит забывать о множественности изоформ данного белка. Например, при боковом амиотрофическом склерозе происходит накопление изоформы Per56, что ведет к уменьшению длины аксонов и дальнейшей нервной дегенерации [45]. Возможно, при эндометриозе тоже могут иметь место аналогичные генетические дефекты.

Так или иначе, PRPH является популярным маркером, используемым для выявления малых нервных волокон при эндометриозе. И его дальнейшее исследование может помочь в изучении многих вопросов, относящихся к неонейрогенезу при эндометриоидной болезни.

Заключение. В настоящей работе были рассмотрены маркеры, участвующие в передаче сигнала по молекулярному каскаду, индуцирующему образование новых нейронов. Наиболее изученным является механизм действия фактора роста нервов, чья повышенная экспрессия, по-

видимому, обусловлена сочетанием гиперэстрогемии, началом воспалительного процесса и повреждением нервных волокон при инвазии эндометриодных клеток. Фактор роста нервов оказывает свое действие через рецептор TrkA, который вместе с рецептором к андрогену, активирует процессы нейронеогенеза и экспрессию периферина, который задает направление роста аксонов. Следует отметить то, что рецептор к андрогену может воздействовать на рост и дифференцировку нейронов даже при малых концентрациях своего лиганда.

Контроль чрезмерной экспрессии может осуществлять белок ARID1A через ингибирование PI3K-пути, который является одним из возможных путей передачи сигнала рецептором TrkA. Данный путь отвечает за клеточную выживаемость. По литературным источникам, при эндометриозе часто наблюдаются генетические аномалии, вследствие которых работа ARID1A нарушается.

Таким образом, описанные маркеры представляют интерес для изучения, и способны прояснить аспекты развития хронической тазовой боли у пациенток с эндометриозом.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Пальцев М.А., Кветной И.М. Нейроиммуноэндокринология эндометрия. В кн: Руководство по нейроиммуноэндокринологии. 3-е изд. М: ЗАО "Шико", 2014. С. 438-533.
2. Ярмолинская М.И., Айламазян Э.К. Генитальный эндометриоз. Различные грани проблемы. СПб.: Эко-Вектор, 2017. 615 с.
3. Кузнецова И.В. Эндометриоз и тазовая боль // Эффективная фармакотерапия. Акушерство и гинекология. 2014. N 3(35). С. 18-27.
4. Stress During Development of Experimental Endometriosis Influences Nerve Growth and Disease Progression / M. Cuevas [et al.] // Reprod Sci. 2018. Vol. 25(3). P. 347-357. DOI: <https://doi.org/10.1177/1933719117737846>
5. Mechanism of pain generation for endometriosis-associated pelvic pain / H. Kobayashi [et al.] // Archives of Gynecology

and Obstetrics. 2014. Vol. 289(1). P. 13-21. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00404-013-3049-8>

6. Important role of collective cell migration and nerve fiber density in the development of deep nodular endometriosis / R. Orellana [et al.] // *Fertil Steril*. 2017. Vol. 107(4). P. 987-995. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.01.005>

7. Инновационный подход в оценке роли нейрогенеза, ангиогенеза и лимфангиогенеза в патогенезе наружного генитального эндометриоза / Т.С. Шевелева [и др.] // *Акушерство и гинекология Санкт-Петербурга*. 2017. N 1. С. 40-45.

8. Wiesmann C., de Vos A.M. Nerve growth factor: structure and function // *Cell Mol Life Sci*. 2001. Vol. 58(5-6). P. 748-59.

9. Bucci C., Alifano P., Cogli L. The Role of Rab Proteins in Neuronal Cells and in the Trafficking of Neurotrophin Receptors // *Membranes*. 2014. N 4. P. 642-677.

10. Sun H.L., Jiang T. The structure of nerve growth factor in complex with lysophosphatidylinositol // *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun*. 2015. Vol. 71(7). P. 906-12. DOI: <https://doi.org/10.1107/S2053230X15008870>

11. Structure of mouse 7S NGF: a complex of nerve growth factor with four binding proteins / B. Bax [et al.] // *Structure*. 1997. Vol. 5(10). P. 1275-85. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(97\)00280-3](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(97)00280-3)

12. Nerve growth factor: structure/function relationships / R.A. Bradshaw [et al.] // *Protein Sci*. 1994. Vol. 3(11). P. 1901-13.

13. Kryzhanovskii S.A., Vititnova M.B. Cardiovascular effects of the nerve growth factor: An analytical review. Part I: NGF-mediated intracellular signaling pathways // *Human Physiology*. 2011. Vol. 37(2). P. 217-228. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0362119711020113>

14. Possible involvement of nerve growth factor in dysmenorrhea and dyspareunia associated with endometriosis / T. Kajitani [et al.] // *Endocr J*. 2013. Vol. 60(10). P. 1155-64. DOI: <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ13-0027>

15. Nerve Growth Factor Is Associated With Sexual Pain in Women With Endometriosis / B. Peng [et al.] // *Reprod Sci*. 2018. Vol. 25(4). P. 540-549. DOI: <https://doi.org/10.1177/1933719117716778>

16. Localization of TrkB and p75 receptors in peritoneal and deep infiltrating endometriosis: an immunohistochemical study / A. Dewanto [et al.] // *Reprod Biol Endocrinol*. 2016. Vol. 14(1). P. 1-13. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12958-016-0178-5>

17. The importance of neuronal growth factors in the ovary / S. Streiter [et al.] // *MHR: Basic science of reproductive medicine*. 2016. Vol. 22(1). P. 3-17. DOI: <https://doi.org/10.1093/molehr/gav057>

18. Low molecular weight, non-peptidic agonists of TrkA receptor with NGF-mimetic activity / D. Scarpi [et al.] // *Cell Death Dis*. 2012. N 3. P. 1-13. DOI: <https://doi.org/10.1038/cddis.2012.80>

19. Effect of siRNA against β -NGF on nerve fibers of a rat model with endometriosis / Y. Chen [et al.] // *Reprod Sci*. 2014. Vol. 21(3). P. 329-39. DOI: <https://doi.org/10.1177/1933719113497279>

20. Роль тестостерона в женском организме. Часть 1. Общая и возрастная эндокринология и физиология тестостерона у женщин / С.Ю. Калинин [и др.] // *ДОКТОР.РУ*. 2015. N 14(115). С. 59-64.

21. Дегтярь В.Т., Кушлинский Н.Е. Специфические свойства рецепторов андрогенов человека // *Сибирский онкологический журнал*. 2005. N 3(15). С. 58-67.

22. Айламазян Э.К. Акушерство. 9-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 704 с.

23. Castoria G., Auricchio F., Migliaccio A. Extranuclear partners of androgen receptor: at the crossroads of proliferation, migration, and neuritogenesis // *FASEB J*. 2017. Vol. 31(4). P. 1289-1300. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.201601047R>

24. Expression of size-polymorphic androgen receptor (AR) gene in ovarian endometriosis according to the number of cytosine, adenine, and guanine (CAG) repeats in AR alleles / J. Fujimoto [et al.] // *Steroids*. 1999. Vol. 64(8). P. 526-9. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0039-128X\(99\)00025-2](https://doi.org/10.1016/S0039-128X(99)00025-2)

25. The association between progestins, nuclear receptors expression and inflammation in endometrial stromal cells from women with endometriosis / G. Grandi [et al.] // *Gynecology Endocrinology*. 2017. Vol. 33(9). P. 712-715. DOI: <https://doi.org/10.1080/09513590.2017.1314458>

26. Simitsidellis I., Saunders P.T.K., Gibson D.A. Androgens and endometrium: New insights and new targets // *Molecular Cell Endocrinology*. 2018. Vol. 465(15). P. 48-60. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.09.022>

27. Steroid receptor levels and histology of endometriosis and adenomyosis / T. Tamaya [et al.] // *Fertil Steril*. 1979 Apr. Vol. 31(4). P. 396-400. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)43935-X](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)43935-X)

28. Androgen receptor cytosine, adenine, and guanine trinucleotide repeat polymorphism in Korean patients with endometriosis: A case-control study / J.J. Shin [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2017. N 218. P. 1-4. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2017.09.005>
29. Identification of Shared Molecular Signatures Indicate the Susceptibility of Endometriosis to Multiple Sclerosis / A. Katiyar [et al.] // *Front Genet.* 2018. N 9. P. 42. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00042>
30. Wang X., Haswell J.R., Roberts C.M.W. Molecular Pathways: SWI/SNF (BAF) complexes are frequently mutated in cancer—mechanisms and potential therapeutic insights // *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research.* 2014. Vol. 20(1). P. 21-27.
31. Wu J.N., Roberts C.W.M. ARID1A Mutations in Cancer: Another Epigenetic Tumor Suppressor? // *Cancer discovery.* 2013. Vol. 3(1). P. 35-43. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0361
32. Helming K.C., Wang X., Roberts C.W.M. Vulnerabilities of mutant SWI/SNF complexes in cancer // *Cancer cell.* 2014. Vol. 26(3). P. 309-317. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.07.018>
33. Wu R.C., Wang T.L., Shih I.M. The emerging roles of ARID1A in tumor suppression // *Cancer Biology & Therapy.* 2014. Vol. 15(6). P. 655-664. DOI: <https://doi.org/10.4161/cbt.28411>
34. Cancer-Associated Mutations in Endometriosis without Cancer / M.S. Anglesio [et al.] // *The New England journal of medicine.* 2017. Vol. 376(19). P. 1835-1848. DOI: 10.1056/NEJMoa1614814
35. ARID1A Expression is Down-Regulated by Oxidative Stress in Endometriosis and Endometriosis-Associated Ovarian Cancer / H. Winarto [et al.] // *Translational Oncogenomics.* 2017. N 9. P. 1-7. DOI: 10.1177 / 1177272716689818
36. Loss of BAF250a (ARID1A) in rectovaginal deep-infiltrating endometriosis, endometriomas and involved pelvic sentinel lymph nodes / G.M. Borrelli [et al.] // *MHR: Basic science of reproductive medicine.* 2016. Vol. 22(5). P. 329-337. DOI: <https://doi.org/10.1093/molehr/gaw009>
37. Mao T.-L., Shih I.-M. The roles of ARID1A in gynecologic cancer // *Journal of Gynecologic Oncology.* 2013. Vol. 24(4). P. 376-381. DOI: <https://doi.org/10.3802/jgo.2013.24.4.376>
38. ARID1A gene mutation in ovarian and endometrial cancers / T. Takeda [et al.] // *Oncology Reports.* 2016. Vol. 35(2). P. 607-613. DOI: <https://doi.org/10.3892/or.2015.4421>
39. ARID1A Mutations and PI3K/AKT Pathway Alterations in Endometriosis and Endometriosis-Associated Ovarian Carcinomas / E.P. Samartzis [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences.* 2013. Vol. 14(9). P.18824-18849. DOI: 10.3390/ijms140918824
40. Hol E.M., Capetanaki Y. Type III Intermediate Filaments Desmin, Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP), Vimentin, and Peripherin // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017. Vol. 9(12). P. 1-18.
41. Zhao J., Liem R.K.H. α -Internexin and Peripherin: Expression, Assembly, Functions, and Roles in Disease // *Methods Enzymol.* 2016. N 568. P. 477-507. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2015.09.012>
42. Peripherin and neurofilaments: expression and role during neural development / M.M. Portier [et al.] // *C R Acad Sci III.* 1993 Sep. Vol. 316(9). P. 1124-40.
43. EP2 receptor antagonism reduces peripheral and central hyperalgesia in a preclinical mouse model of endometriosis / E. Greaves [et al.] // *Scientific Reports.* 2017. N 7. P. 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep44169>
44. Whole genome deoxyribonucleic acid microarray analysis of gene expression in ectopic versus eutopic endometrium / K.M. Eyster [et al.] // *Fertil Steril.* 2007 Dec. Vol. 88(6). P. 1505-33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.01.056>
45. ALS mouse model SOD1G93A displays early pathology of sensory small fibers associated to accumulation of a neurotoxic splice variant of peripherin / J. Sassone [et al.] // *Human Molecular Genetics.* 2016. Vol. 25(8). P. 1588-1599. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw035>

References

1. Paltsev MA, Kvetnoy IM. [Neuroimmune-endocrinology of the endometrium]. In: [The guide to neuroimmune-endocrinology], 3rd ed. Moscow: ZAO "Shiko"; 2014:438-533. Russian.
2. Yarmolinskaya MI, Aylamazyan EK. [Genital endometriosis. Different facets of the problem]. St. Petersburg: Eco-Vector; 2017. Russian.
3. Kuznetsova IV. [Endometriosis and pelvic pain]. Effective pharmacotherapy. Obstetrics and gynecology. 2014;3(35):18-27. Russian.
4. Cuevas M, Cruz ML, Ramirez AE, et al. Stress During Development of Experimental

- Endometriosis Influences Nerve Growth and Disease Progression. *Reprod Sci.* 2018;25(3):347-357. DOI: <https://doi.org/10.1177/1933719117737846>
5. Kobayashi H, Yamada Y, Morioka S, et al. Mechanism of pain generation for endometriosis-associated pelvic pain. *Archives of Gynecology and Obstetrics.* 2014;289(1):13-21. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00404-013-3049-8>
6. Orellana R, García-Solares J, Donnez J, et al. Important role of collective cell migration and nerve fiber density in the development of deep nodular endometriosis. *Fertil Steril.* 2017;107(4):987-995. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.01.005>
7. Sheveleva TS, Bezhenar VF, Komlichenko EV, et al. Innovative approach in assessing the role of neurogenesis, angiogenesis and lymphangiogenesis in the pathogenesis of external genital endometriosis. *Akusherstvo i ginekologiya Sankt-Peterburga.* 2017;1:40-45. Russian.
8. Wiesmann C, de Vos AM. Nerve growth factor: structure and function. *Cell Mol Life Sci.* 2001;58(5-6):748-59.
9. Bucci C, Alifano P, Cogli L. The Role of Rab Proteins in Neuronal Cells and in the Trafficking of Neurotrophin Receptors. *Membranes.* 2014;4:642-677.
10. Sun HL, Jiang T. The structure of nerve growth factor in complex with lysophosphatidylinositol. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun.* 2015;71(7):906-12. DOI: <https://doi.org/10.1107/S2053230X15008870>
11. Bax B, Blundell TL, Murray-Rust J, et al. Structure of mouse 7S NGF: a complex of nerve growth factor with four binding proteins. *Structure.* 1997;5(10):1275-85. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(97\)00280-3](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(97)00280-3)
12. Bradshaw RA, Murray-Rust J, Ibáñez CF, N et al. Nerve growth factor: structure/function relationships. *Protein Sci.* 1994;3(11):1901-13.
13. Kryzhanovskii SA, Vititnova MB. Cardiovascular effects of the nerve growth factor: An analytical review. Part I: NGF-mediated intracellular signaling pathways. *Human Physiology.* 2011;37(2):217-228. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0362119711020113>
14. Kajitani T, Maruyama T, Asada H, et al. Possible involvement of nerve growth factor in dysmenorrhea and dyspareunia associated with endometriosis. *Endocr J.* 2013;60(10):1155-64. DOI: <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ13-0027>
15. Peng B, Zhan H, Alotaibi F, et al. Nerve Growth Factor Is Associated With Sexual Pain in Women With Endometriosis. *Reprod Sci.* 2018;25(4):540-549. DOI: <https://doi.org/10.1177/1933719117716778>
16. Dewanto A, Dudas J, Glueckert R, et al. Localization of TrkB and p75 receptors in peritoneal and deep infiltrating endometriosis: an immunohistochemical study. *Reprod Biol Endocrinol.* 2016;14(1):1-13. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12958-016-0178-5>
17. Streiter S, Fisch B, Sabbah B, et al. The importance of neuronal growth factors in the ovary. *MHR: Basic science of reproductive medicine.* 2016;22(1):3-17. DOI: <https://doi.org/10.1093/molehr/gav057>
18. Scarpi D, Cirelli D, Matrone C, et al. Low molecular weight, non-peptidic agonists of TrkA receptor with NGF-mimetic activity. *Cell Death Dis.* 2012;3:1-13. DOI: <https://doi.org/10.1038/cddis.2012.80>
19. Chen Y, Li D, Zhang Z, et al. Effect of siRNA against β -NGF on nerve fibers of a rat model with endometriosis. *Reprod Sci.* 2014;21(3):329-39. DOI: <https://doi.org/10.1177/1933719113497279>
20. Kalinchenko SYu, Tyuzikov IA, Tishova YuA, et al. [The role of testosterone in the female body. Part 1. General and age-related endocrinology and physiology of testosterone in women]. *DOKTOR.RU.* 2015;14(115):59-64. Russian.
21. Degtyar VT, Kushlinsky NE. [The specific properties of human androgen receptors]. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal.* 2005;3(15):58-67. Russian.
22. Aylamazyan EK. [Obstetrics]. 9th ed., corrected and expanded. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. Russian.
23. Castoria G, Auricchio F, Migliaccio A. Extranuclear partners of androgen receptor: at the crossroads of proliferation, migration, and neuritogenesis. *FASEB J.* 2017;31(4):1289-1300. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.201601047R>
24. Fujimoto J, Hirose R, Sakaguchi H, et al. Expression of size-polymorphic androgen receptor (AR) gene in ovarian endometriosis according to the number of cytosine, adenine, and guanine (CAG) repeats in AR alleles. *Steroids.* 1999;64(8):526-9. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0039-128X\(99\)00025-2](https://doi.org/10.1016/S0039-128X(99)00025-2)
25. Grandi G, Mueller MD, Bersinger NA, et al. The association between progestins, nuclear receptors expression and inflammation in endometrial stromal cells from women with endometriosis. *Gynecology Endocrinology.* 2017;33(9):712-715. DOI: <https://doi.org/10.1080/09513590.2017.1314458>

26. Simitsidellis I, Saunders PTK, Gibson DA. Androgens and endometrium: New insights and new targets. *Molecular Cell Endocrinology*. 2018;465(15):48-60. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.09.022>
27. Tamaya T, Motoyama T, Ohono Y, et al. Steroid receptor levels and histology of endometriosis and adenomyosis. *Fertil Steril*. 1979 Apr;31(4):396-400. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)43935-X](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)43935-X)
28. Shin JJ, Choi YM, Choi HY, et al. Androgen receptor cytosine, adenine, and guanine trinucleotide repeat polymorphism in Korean patients with endometriosis: A case-control study. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2017;218:1-4. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2017.09.005>
29. Katiyar A, Sharma S, Singh TP, et al. Identification of Shared Molecular Signatures Indicate the Susceptibility of Endometriosis to Multiple Sclerosis. *Front Genet*. 2018;9:42. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00042>
30. Wang X, Haswell JR, Roberts CMW. Molecular Pathways: SWI/SNF (BAF) complexes are frequently mutated in cancer—mechanisms and potential therapeutic insights. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2014;20(1):21-27.
31. Wu JN, Roberts CWM. ARID1A Mutations in Cancer: Another Epigenetic Tumor Suppressor? *Cancer discovery*. 2013;3(1):35-43. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0361
32. Helming KC, Wang X, Roberts CWM. Vulnerabilities of mutant SWI/SNF complexes in cancer. *Cancer cell*. 2014;26(3):309-317. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.07.018>
33. Wu RC, Wang TL, Shih IM. The emerging roles of ARID1A in tumor suppression. *Cancer Biology & Therapy*. 2014;15(6):655-664. DOI: <https://doi.org/10.4161/cbt.28411>
34. Anglesio MS, Papadopoulos N, Ayhan A, et al. Cancer-Associated Mutations in Endometriosis without Cancer. *The New England journal of medicine*. 2017;376(19):1835-1848. DOI: 10.1056/NEJMoa1614814
35. Winarto H, Tan MI, Sadikin M, et al. ARID1A Expression is Down-Regulated by Oxidative Stress in Endometriosis and Endometriosis-Associated Ovarian Cancer. *Translational Oncogenomics*. 2017;9:1-7. DOI: 10.1177 / 1177272716689818
36. Borrelli GM, Abrão MS, Taube ET, et al. Loss of BAF250a (ARID1A) in rectovaginal deep-infiltrating endometriosis, endometriomas and involved pelvic sentinel lymph nodes. *MHR: Basic science of reproductive medicine*. 2016;22(5):329-337. DOI: <https://doi.org/10.1093/molehr/gaw009>
37. Mao T-L, Shih I-M. The roles of ARID1A in gynecologic cancer. *Journal of Gynecologic Oncology*. 2013;24(4):376-381. DOI: <https://doi.org/10.3802/jgo.2013.24.4.376>
38. Takeda T, Banno K, Okawa R, et al. ARID1A gene mutation in ovarian and endometrial cancers. *Oncology Reports*. 2016;35(2):607-613. DOI: <https://doi.org/10.3892/or.2015.4421>
39. Samartzis EP, Noske A, Dedes KJ et al. ARID1A Mutations and PI3K/AKT Pathway Alterations in Endometriosis and Endometriosis-Associated Ovarian Carcinomas. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013;14(9):18824-18849. DOI: 10.3390/ijms140918824
40. Hol EM, Capetanaki Y. Type III Intermediate Filaments Desmin, Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP), Vimentin, and Peripherin. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2017;9(12):1-18.
41. Zhao J, Liem RKH. α -Internexin and Peripherin: Expression, Assembly, Functions, and Roles in Disease. *Methods Enzymol*. 2016;568:477-507. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2015.09.012>
42. Portier MM, Ecurat M, Landon F, et al. Peripherin and neurofilaments: expression and role during neural development. *C R Acad Sci III*. 1993 Sep;316(9):1124-40.
43. Greaves E, Horne AW, Jerina H, et al. EP2 receptor antagonism reduces peripheral and central hyperalgesia in a preclinical mouse model of endometriosis. *Scientific Reports*. 2017;7:1-10. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep44169>
44. Eyster KM, Klinkova O, Kennedy V, et al. Whole genome deoxyribonucleic acid microarray analysis of gene expression in ectopic versus eutopic endometrium. *Fertil Steril*. 2007 Dec;88(6):1505-33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.01.056>
45. Sassone J, Taiana M, Lombardi R, et al. ALS mouse model SOD1G93A displays early pathology of sensory small fibers associated to accumulation of a neurotoxic splice variant of peripherin. *Human Molecular Genetics*. 2016;25(8):1588-1599. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw035>

Информация об авторах

Александр Евгеньевич Андреев, бакалавр технических наук, магистр 2 курса, направление «Медицинская физика», ИБСИТ, ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский

политехнический университет Петра Великого», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», E-mail: alexander_597@mail.ru, ORCID: 0000-0003-3343-2937.

Татьяна Сергеевна Клейменова, младший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии, ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», E-mail: kleimenovats@gmail.com, ORCID: 0000-0003-0767-5564, ResearcherID: P-7344-2016.

Анна Олеговна Дробинцева, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии, ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», E-mail: anna.drobintseva@gmail.com, ORCID: 0000-0002-6833-6243, ResearcherID: K-1210-2013.

Виктория Олеговна Полякова, доктор биологических наук, профессор, профессор РАН, заведующая лабораторией клеточной биологии отдела патоморфологии, ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», ФГБНУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», E-mail: vopol@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-8682-9909, ResearcherID: O-1461-2016.

Игорь Моисеевич Кветной, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, руководитель отдела патоморфологии, ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», E-mail: igor.kvetnoy@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-7302-5581, ResearcherID: H-4882-2016.

Information about the authors

Alexander E. Andreev, Bachelor of Technical Sciences, 2nd-year Master's Degree Student, field of study «Medical Physics», IBSIT, Research Institute

of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine named after D.O. Ott, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg State Pediatric Medical University, E-mail: alexander_597@mail.ru, ORCID: 0000-0003-3343-2937.

Tatyana S. Kleimenova, Junior Researcher, Laboratory of Cell Biology, Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine named after D.O. Ott, St. Petersburg State Pediatric Medical University, E-mail: kleimenovats@gmail.com, ORCID: 0000-0003-0767-5564, ResearcherID: P-7344-2016.

Anna O. Drobintseva, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Senior Researcher, Laboratory of Cell Biology, Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine named after D.O. Ott, St. Petersburg State Pediatric Medical University, E-mail: anna.drobintseva@gmail.com, ORCID: 0000-0002-6833-6243, ResearcherID: K-1210-2013.

Victoriya O. Polyakova, Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Cell Biology of the Department of Pathomorphology, Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine named after D.O. Ott, St. Petersburg State University, Military Medical Academy named after S.M. Kirov, E-mail: vopol@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-8682-9909, ResearcherID: O-1461-2016.

Igor M. Kvetnoy, Doctor of Medical Sciences, Professor, Honored Scientist, Head of the Department of Pathomorphology, Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine named after D.O. Ott, St. Petersburg State University, E-mail: igor.kvetnoy@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-7302-5581, Researcher ID: H-4882-2016.

Статья поступила в редакцию 3 сентября 2018 г.
Receipt date 2018 September 3.

Статья принята к публикации 15 декабря 2018 г.
Accepted for publication 2018 December 15.



УДК 616.89-008.441.42

DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-8

Л.И. Захарова

Нервная анорексия: распространенность, критерии диагностики и психосоматические соотношения (обзор)

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Курский государственный медицинский университет»
ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305004, Российская Федерация
Автор для переписки: Л.И. Захарова (zaharova1@r46.ru)

Аннотация

Актуальность: Проблема нервной анорексии в последние годы приобретает все большую актуальность в связи с ростом числа случаев заболевания среди детей и подростков, а также недостаточной эффективностью лечебных мероприятий.

Цель исследования: На основе литературных данных изучить современное состояние проблемы нервной анорексии, ее распространенности, описание диагностических критериев, представление физиологических и психологических ее последствий, а также подходов к лечению. **Материалы и методы:** Изучены литературные данные по поисковому слову «нервная анорексия» за период 2012-2018 гг. в компьютерных базах данных PubMed, Medical-Science, Elibrary, Web of Science, Scopus. **Результаты:** Распространенность НА в популяции составляет 1,2% среди женщин и 0,29% среди мужчин. Клиническая картина включает психические, эндокринные нарушения и расстройства пищеварения. Синдром НА встречается при различных формах психических заболеваний. Лечение пациентов с НА включает в себя несколько этапов. Неспецифический, или экстренный, этап направлен на ликвидацию тяжелых последствий недостаточности питания и проводится только в условиях стационара. Этап специфического лечения наступает после нормализации жизненно важных функций, при адекватной переносимости питания, прибавке в весе. Далее следует реабилитационный этап. При НА наблюдается высокая смертность: 30-40% больных погибают через 10 и более лет от начала заболевания. Чем дольше протекает заболевание, тем выше риск смерти для больного. Основные причины смерти при НА составляют пневмония, отек легкого, интеркуррентные инфекции. Высокая летальность наблюдается также в результате суицида. Прогноз лечения при НА зависит от своевременной диагностики данного заболевания и обусловленных им осложнений, принятия адекватных лечебно-тактических решений и мотивирования больного к проведению терапии и выздоровлению. **Заключение:** НА – это серьезное, трудно поддающееся лечению заболевание, требующее участия многих специалистов в подборе комплексной терапии.

Ключевые слова: нервная анорексия; кахексия; аменорея; дисморфофобия.

Информация для цитирования: Захарова Л.И. Нервная анорексия: распространенность, критерии диагностики и психосоматические соотношения (обзор) // Научные результаты биомедицинских исследований. 2019. Т. 5, № 1. С. 108-121 [Zakharova LI. Anorexia nervosa: prevalence, diagnostic criteria and psychosomatic relations (review). Research Results in Biomedicine. 2019;5(1):108-121 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-8

Liliya I. Zakharova

**Anorexia nervosa: prevalence, diagnostic criteria
and psychosomatic relations (review)**

Kursk State Medical University,
3 Karl Marks St., Kursk, 305004, Russia
Corresponding author: Liliya I. Zakharova (zaharova1@r46.ru)

Abstract

Background: The problem of anorexia nervosa has become more and more important in recent years due to the increasing incidence of the disease among children and adolescents as well as lack of efficacy of therapeutic measures. **The aim of the study:** To study modern literature data on the problem of anorexia nervosa, its prevalence, diagnostic criteria, physiological and psychological consequences and treatment methods. **Materials and methods:** The study is based on all available literature data for 2012-2018 contained in the databases of PubMed, Medical-Science, Elibrary, Web of Science, Scopus. **Results:** The prevalence of anorexia nervosa in the population is 1.2% among women and 0.29% among men. The clinical picture includes mental, endocrine and digestive disorders. Anorexia nervosa syndrome occurs in various forms of mental illness. Treatment of patients with anorexia nervosa includes several stages. Firstly, the nonspecific or emergency stage is aimed at eliminating the severe consequences of malnutrition and is carried out only in a hospital. After the normalization of vital functions when the food is absorbed normally and the weight increases, the stage of specific treatment can be started. The next stage of treatment is rehabilitation. Anorexia nervosa is accompanied by high mortality of patients. Approximately 30-40% of them die after 10 years after the onset of the disease. Mortality increases with the duration of the disease. The causes of death in anorexia nervosa include pneumonia, pulmonary edema, and intercurrent infections. High mortality also occurs as a result of suicide. The prognosis of treatment for anorexia nervosa depends on the timely diagnosis of this disease and its complications, on the correctness of the therapeutic tactics of decisions and the patient's desire to conduct therapy and recovery. **Conclusion:** Anorexia nervosa is a serious and difficult to treat disease which requires the involvement of many specialists in the selection of a complex therapy.

Keywords: anorexia nervosa; cachexia; amenorrhea; dysmorphophobia

Актуальность. Проблема нервной анорексии в последние годы приобретает все большую актуальность в связи с ростом числа случаев заболевания среди детей и подростков, а также недостаточной эффективностью лечебных мероприятий, что определяет высокую частоту осложнений и рецидивов заболевания [1, 2].

Anorexia nervosa, (от греч.: *an* – отрицат. частица + *orexis* – аппетит) – синдром невротического регистра, характерный в большей мере для у девочек-подростков и девушек, проявляющийся воздержанием от пищи, отсутствием аппетита, что сопровождается снижением веса, развитием амено-

реи, сменой привычек, состоянием гиперактивности [3].

Целью обзора было на основе литературных данных изучить современное состояние проблемы нервной анорексии (НА), ее распространенности, описание диагностических критериев, представление физиологических и психологических ее последствий, а также подходов к лечению.

Материал и методы. Изучены литературные данные по поисковому слову «нервная анорексия» за период 2012–2018 гг. в компьютерных базах данных PubMed, Medical-Science, Elibrary, Web of Science, Scopus.

Результаты исследования и обсуждение.

В историческом аспекте, первое научное описание данной патологии принадлежит Ричарду Мортону (1637-1698) – под названием «нервная чахотка» [цит. по 4]. В 1684 году к нему на приём пришла пациентка в состоянии истощения и аменореи, всё остальное было в порядке. Удивительной была способность пациентки совершать длительные прогулки, много читать и конспектировать прочитанное, не смотря на крайнюю степень истощения. Мортон определил, что заболевание относится к психическим и заключается в «умственной страсти». Для стимуляции аппетита девушке давали «горькие пилюли», заставляли ее пить «противоистерическую воду», содержащую касторку и нашатырный спирт. После незначительного улучшения состояния больная отказалась от продолжения лечения, и предложила «предоставить всё природе». Мортон согласился, о чем впоследствии пожалел: состояние пациентки резко ухудшилось, снова возобновились обмороки, и через три месяца девушка скончалась. В последующем он лечил молодого человека с более эффективным результатом.

Начало изучения этого заболевания тесно связано с исследованиями W. Gull (1868) и Ch. Lasague (1873), которые почти в одно время и независимо один от другого опубликовали статьи о нервной анорексии [цит. по 4]. W. Gull предложил термин «нервная анорексия» (*anorexia nervosa*). Заболевание быстро распространялось. В 60-е годы прошлого века широко была известна Lesley Hornby – британская супермодель, певица и актриса, выступающая под именем Твигги, что в переводе с английского означает «тоненькая, хрупкая» (от англ.: *twig* – «тростинка»). При росте 169 см Лесли весила 40 кг. Была лицом модного Лондона 1960-х и иконой субкультуры *модов*. Миллионы девушек по всему миру, стремясь походить на модель, худели до измождения («синдром Твигги»).

Описывается [6] история юной англичанки, которой очень хотелось быть похожей на куклу Барби, для чего она отказалась от привычной пищи и начала есть бумагу –

есть-то хотелось. Поэтому в ряде случаев добровольный отказ от приема пищи называют «синдромом Барби».

Нервная анорексия, несмотря на название, в МКБ-10 не относится к рубрике F4 – Невротические, связанные со стрессом и соматоформные расстройства, а включена в рубрику F50 «Поведенческие синдромы, связанные с физиологическими и физическими факторами» (МКБ-10).

По литературным данным [4, 7] в странах Европы у лиц женского пола в возрасте 15-20 лет НА выявлялась в 16 случаях на 100 тыс., или у 0,016%. Частота НА в странах Европы остается стабильной на протяжении продолжительного времени [8, 9]. В последние годы [10] отмечается рост заболеваемости НА. Распространенность НА в популяции составляет 1,2% среди женщин и 0,29% среди мужчин [11]. При этом НА у лиц мужского пола встречается в 5 раз реже, чем у женского [12]. По мнению [13], несмотря на то, что 90% пациентов с расстройством пищевого поведения составляют женщины, распространенность диагностированных расстройств пищевого поведения у мужчин будет увеличиваться.

Скрининговое обследование студентов медицинского института [14] выявило у 28% обследованных девушек в возрасте 17-25 лет дефицит массы, у 65% ИМТ соответствовал нормальному значению, а у 7% выявлена избыточная масса тела. Также, среди общего количества обследованных лиц выявлено 22% с явной склонностью к анорексии, хотя показатель ИМТ у данной категории не выходил за рамки нормального значения. У лиц с дефицитом массы выявлена лабильность пищевого поведения, в сочетании с наиболее частым применением искусственных методов снижения массы тела.

Подавляющее большинство (90%) больных составляют лица женского пола в возрасте от 12 до 24 лет. Летальность при НА достаточно высока и составляет 5-6% и обусловлена нарушениями сердечной деятельности и суицидом. По другим данным, летальность может достигать 15% [15].

Причины возникновения НА окончательно не установлены. Считается [10, 16], что основными причинами ее развития яв-

ляются: биологические (наследственная предрасположенность), психологические (негативное влияние семьи и внутренние конфликты) и социальные (влияние общества) факторы. Кроме того, немаловажную роль играют погрешности в семейном воспитании: деспотичная мать и находящийся в подчинении отец, не уделяющий должного внимания ребенку. В таком случае отказ от пищи выступает как протест против власти матери. При этом наиболее выраженное снижение индекса массы тела наблюдается у девушек в модельном бизнесе: девушки стремительно понижают свой вес с целью участия в показах мод и часто не могут остановиться – организм продолжает терять вес, что приводит к летальному исходу.

Болезненная уверенность в собственной «излишней полноте», которая чаще всего носит характер сверхценной или бредовой идеи, со временем наталкивает больных на мысли о необходимости «коррекции» имеющегося «недостатка», являющегося на самом деле мнимым или сильно преувеличенным. Большинство больных пытаются бороться с лишним весом тайно (прежде всего от членов семьи): принимают пищу в одиночестве, а если это не возможно, прибегают к различным хитростям [5, 17, 18]. Кроме того, для больных с НА характерно стремление перекормить других членов семьи, особенно младших братьев или сестер, при постоянно ограничении в пище себя самих. Многие больные не останавливаются только на ограничениях в еде, они также активно занимаются различными физическими упражнениями [19], чаще всего по самостоятельно придуманной ими самими системе. Помимо этого, частым является нерациональный прием слабительных средств в огромных количествах (при длительном голодании прием слабительных объясняется также проблемой запоров, являющихся следствием атонии кишечника).

Неправильное пищевое поведение у больных НА в зачатку обусловлено наличием или отсутствием в клинической картине явлений булимии. При НА без булимии патологическое пищевое поведение проявляется в виде строгой диеты с использованием интенсивных физических нагрузок

и, нередко, злоупотреблением слабительными препаратами. При НА с булимией оно выражается в приступах перееданий с последующей рвотой [20].

Существует два подтипа НА [21]: очистительный и ограничительный.

Очистительный тип (компульсивное переедание/очищение кишечника): пациенты используют компульсивное переедание или очистительное поведение в качестве средства потери веса. Он отличается от нервной булимии весом пациентов. Пациенты с очистительным типом анорексии не поддерживают здоровый или нормальный вес, но имеют значительную недостаточность веса. Пациенты с нервной булимией, с другой стороны, могут иметь некоторый избыточный вес.

Ограничительный тип: пациенты ограничивают себя в еде, голодают, принимают диетические лекарства или используют физические тренировки в качестве средства потери веса. Они могут прибегать к чрезмерным физическим нагрузкам для сброса веса или предотвращения его повторного набора, а некоторые едят только для поддержания жизни.

В отечественной психиатрии [15] течение анорексии подразделяют на три стадии: дисморфоманическую, аноректическую, кахектическую.

Дисморфоманическая стадия заключается в преобладании мыслей о собственной неполноценности из-за кажущейся полноты, что сопровождается подавленным настроением, тревогой. Пациентки склонны длительно рассматривать себя в зеркале. В этот период появляются первые попытки ограничить себя в пище. Продумываются стандарты для своей фигуры с последующим стремлением достичь результата.

Аноректическая стадия следует за периодом стойкого голодания, во время которого теряется 20–30 % от общего веса. Для этой стадии проявляется эйфорией от «похудания» с еще большим ужесточением диеты для более быстрого достижения эффекта. Пациенты пытаются убедить всех вокруг и самих себя в отсутствии аппетита и продолжают еще больше изнурять себя физическими упражнениями. Однако имеюща-

яся дисморфофобия препятствует формированию реальной оценки своего веса и состояния. На данной стадии у пациентов появляются сухость кожи, зябкость, аллопеция, постепенно расстраивается как менструальный цикл у женщин, так и сперматогенез у мужчин, снижается половое влечение.

С наступлением *кахектической* стадии (примерно через 1,5–2 года) начинается необратимая дистрофия внутренних органов, которая наступает. Снижение веса происходит до 50% от первоначального. Для больных НА характерно повышение сывороточных концентраций холестерина и каротина, а также развитие лейкопении и анемии. Длительный отказ от пищи может также привести к брадикардии и снижению АД, нарушению работы желудочно-кишечным тракта, кахексии. На эмали внутренней поверхности зубов как следствие многократной рвоты могут появиться эрозии. Выраженная потеря веса и недостаток питательных веществ влекут за собой изменение эндокринного статуса: нарушение деятельности щитовидной железы, неправильный метаболизм половых гормонов, что проявляется состоянием гипоэстрогении и, как следствие, развитием аменореи и остеопороза, [15]. По мимо этого, длительное течение нервной анорексии приводит калиево-натриевому дисбалансу, что в свою очередь чревато развитием нарушений сердечного ритма, в том числе угрожающих жизни. Поэтому данная стадия зачастую является необратимой.

Нервная анорексия приводит ко множеству негативных последствий. Со стороны сердечно-сосудистой системы: головокружение, обмороки, ощущение холода, брадикардия, сердечная аритмия; со стороны желудочно-кишечного тракта: боли в желудке, запор, тошнота, диспепсия; со стороны кожных покровов: выпадение волос, сухость и бледность кожи, нарушение структуры ногтей; а также заболевания эндокринной системы, замедление обмена веществ, аменорея и бесплодие, снижение массы мозга [15].

По степени тяжести [22] НА классифицируется по индексу массы тела:

1. **Легкая:** Индекс массы тела равен 17-17,99;
2. **Умеренная:** Индекс массы тела составляет 16-16,99;
3. **Тяжелая:** Индекс массы тела варьирует 15-15,99;
4. **Крайняя:** Индекс массы тела менее 15.

Нервная анорексия не является самостоятельным заболеванием. Синдром НА встречается при разных видах психической патологии: от пограничных нервно-психических расстройств [23, 24], до шизофрении [25, 26]. Чаще всего, нарушения в пищевом поведении сочетаются с целым рядом психопатологических расстройств (навязчивости, страхи, депрессивные нарушения и др). Кроме того, нередко у пациентов с начальным диагнозом «Анорексия» затем диагностируется «Булимия», или «Атипичная булимия», что дает основания полагать о некоем континууме, на одном полюсе которого анорексия, а на втором – булимия [27].

В 99% случаев среди больных НА отмечается сочетание с соматическими и неврологическими расстройствами, которые предшествуют или осложняют нарушения пищевого поведения. Чаще других из неврологических и соматических заболеваний встречались: умеренные или выраженные дисметаболические изменения миокарда, хронические гастриты, энтериты, колиты, синдром раздраженного кишечника, гипохромная анемия, воспаление околоушных слюнных желез, кисты щитовидной железы, поликистоз яичников, эмфизема легких, пиелонефрит, аутоиммунный тиреоидит, гидроцефалия, кахексия [28].

В последние годы [29] отмечается увеличение частоты сочетания сахарного диабета 1 типа и расстройств пищевого поведения. Это требуют более тщательного изучения коморбидности подобной патологии. Необходимо также широко информировать врачей общей практики и эндокринологов о расстройствах пищевого поведения, с целью их предупреждения, раннего выявления и лечения. Выявлены нарушения иммунного и цитокинового статуса при НА и сопряженное с ними «повреждение» оси гипоталамус-

гипофиз-гонады, что требует продолжения изучения патогенеза данного расстройства. Это позволит дополнить алгоритм прогнозирования восстановления репродуктивной функции девочек-подростков с НА.

У пациентов с НА на протяжении жизни наблюдаются высокие показатели распространенности психических расстройств: аффективные расстройства настроения – в 51,4% , тревожные расстройства в 60% и алкоголизм в 27,1% случаев [30].

По другим данным, НА в 20–89% случаев сочетается с большим депрессивным расстройством, а в 55–60% – с тревожными расстройствами [31, 32], а также с биполярным расстройством [13]. Кроме того, у пациентов с НА чаще встречается генерализованное тревожное расстройство, изолированная тревога, паническое расстройство и обсессивно-компульсивное расстройство [8].

Выявлено нарушение сексуального поведения у лиц с НА [33]. Выделяют 3 группы расстройств:

1 – с ограничительным пищевым поведением. Больные с детского возраста пребывают в состоянии кахексии, из-за чего у них с юных лет формируется преимущественно мужской тип поведения, характеризующийся синдромом отрицания пола, вплоть до транссексуализма.

2 – больные с эпизодически возникающей булимией, которая развивается как осложнение многолетнего ограничения в еде. В данной группе характерна допубертатная мастурбация без эротических переживаний с формированием в дальнейшем чувства вины.

3 – больные нервной булимией, которая возникла после непродолжительного этапа ограничения в еде. Для таких лиц характерны выраженные перепады настроения, которые влияют на сексуальное поведение: от сексуальной расторможенности, встречающейся при гипоманиакальных и маниакальных состояниях, до аверсии к интимному партнеру при депрессиях.

У больных НА часто выявляются ипохондрические расстройства: в 31% наблюдений в структуре ипохондрического синдрома преобладают навязчивости; в 21% случаев встречается депрессивная ипохон-

дрия сверхценного характера; в 24% наблюдений – депрессивная ипохондрия с преобладанием сенестопатически-ипохондрических расстройств и еще в 24% случаев выявляется бредовая ипохондрия [34].

Психиатрические последствия синдрома НА разнообразны. Клиническая картина зависит от принадлежности симптоматики [35]. Так если НА наблюдается в структуре шизофрении, то по мере прогрессирования заболевания развивается патология влечений: булимия, фобии, ритуалы, нарушение полового инстинкта (гиперсексуальность или фригидность), суицидомания, аутоагрессия, клептомания, встречается парабулия (поедание несъедобных вещей, злоупотребление слабительными, мочегонными, кофе), а также vomитомания. У некоторых больных в течение заболевания возникает патологическое влечение к психоактивным веществам. В свою очередь расстройства волевой сферы в виде апатии и абулии у пациентов с НА формируются медленно. В то же время при невротических расстройствах нарастание данной симптоматики не было отмечено.

Начало НА в подростковом возрасте характеризуется более благоприятным прогнозом, чем при более позднем дебюте. Около 70-80% пациентов в этой возрастной группе достигают ремиссии [36]. При этом выздоровление занимает несколько лет и сопровождается формированием различных психических расстройств (аффективных, тревожных, невротических, а также зависимостей). По другим данным [37], выздоровление наступает у 60,3% пациентов, страдающих нервной анорексией, у 25,8% состояние улучшается, у 6,4% отсутствует положительная динамика и у такого же количества больных состояние ухудшается.

Что касается причин формирования анорексии, то существует несколько подходов. Важными аспектами анорексии являются *социокультурный* – полнота раньше не являлась поводом для стигматизации и *экономический* – связанный с наличием пищи и возможностью ее приобретения [38]. Высказывается предположение, что алекситимия может быть способствующим фактором, повышающим риск развития нарушений пи-

щевое поведения [39]. С точки зрения социологов [40], доминирующая в обществе точка зрения о «некрасивости полноты», критическое восприятие лишнего веса окружающими и насмешки с их стороны способны травмировать особенно восприимчивых личностей и служат основой для формирования сверхценной идеи достижения «эталона внешности».

Высказывается предположение [1], что в значительном числе случаев подростковые атипичные расстройства пищевого поведения входят в структуру особого психопатологического диатеза, в основе которого преобладают тимопатические радикалы, и являются наиболее драматическим проявлением в этом возрасте. В дальнейшем расстройства пищевого поведения начинают уступать другой психопатологической симптоматике, в первую очередь аффективной и ассоциированной с ней.

Факторами риска развития НА являются: женский пол, наличие расстройства приема пищи у близких родственников, склонность к перфекционизму, трудности в

преодолении негативных эмоций и разрешении конфликтов, низкая самооценка [41, 42].

Выявлено [37] 8 факторов, препятствующих положительной динамике НА в течение двухлетнего периода: 1) значение индекса массы тела при выписке из стационара ниже нормы; 2) недостаточное содержание жиров и калорийности в рационе; 3) высокие физические нагрузки; 4) высокая самооценка; 5) выраженная подозрительность; 6) недоверие к окружающим; 7) использование зонда для приема пищи; 8) скрупулезность в лечении

Диагностика НА представляет определенные сложности, так как феноменологически может наблюдаться при различной соматической патологии, в том числе и онкологической с нарушением питания и значительной потерей веса тела. В последнем случае диагноз НА не выставляется.

Сравнительные критерии диагностики НА по МКБ-10 [43] и DSM-5 [22] представлены в таблице 1.

Таблица 1

Критерии диагностики нервной анорексии по МКБ-10 и DSM-5

Table 1

Criteria for diagnosis of anorexia nervosa according to ICD-10 and DSM-5

МКБ-10	DSM-5
А. Вес тела на 15% ниже нормативного. Значение индекса массы тела Кветелета равно 17,5 или ниже.	А. Отказ поддерживать вес в минимальных пределах возрастной нормы или неспособность набрать 85% от ожидаемого веса за установленный период времени.
Б. Снижение веса вызывается самим пациентом путем избегания приема пищи, которая «полнит». Используются вызывание у себя рвоты, прием слабительных средств, диуретиков, препаратов, подавляющих аппетит, чрезмерные физические упражнения.	В. Нарушение восприятия веса или формы своего тела; вес тела и его параметры оказывают неоправданно большое влияние на самооценку; отрицание серьезности текущих проблем, связанных с недоеданием.
В. Навязчивые и сверхценные идеи в интерпретации искаженного восприятия образа своего тела.	С. Сильный страх ожирения, несмотря на недостаток массы тела.
Г. Общие эндокринные расстройства. Аменорея у женщин, утрата либидо и снижение потенции у мужчин.	Д. Отсутствие в процессе полового созревания подряд трех менструальных циклов.
Д. При начале в препубертатном возрасте проявления пубертата задерживаются (прекращается рост, у девочек не развиваются грудные железы, первичная аменорея).	

НА приводит к грубой дезадаптации пациентов, для лечения которых требуются немалые финансовые затраты, связанные с длительностью и высокой частотой повторных госпитализаций, необходимостью коррекции множественных соматических осложнений. При НА, в отличие от других психических расстройств, характеризуется максимальной смертностью больных [44].

Лечение синдрома НА должно быть комплексным и включать психофармакотерапевтическое, психологическое воздействие, диетотерапию, терапию соматической патологии и сопутствующих осложнений [45]. Перечисленные моменты терапии важны и должны проводиться параллельно. Однако главным моментом в лечении болезни представляется лечение основного психопатологического синдрома, что невозможно без постоянного наблюдения со стороны психиатра.

В лечении [11] пациентов с нервной анорексией можно выделить три этапа.

–1 этап – **«неспецифический»**, (7-14 дней) направлен на восстановление жизненно важных функций, ликвидацию метаболических и водно-электролитных нарушений, обеспечение адекватных сердечных функций и формирование толерантности к пище.

–2 этап – **«специфический»**, направлен на коррекцию дефицита массы тела, оптимизацию метаболизма (2–3 недели). На этом более длительном этапе проводятся лечебные мероприятия, направленные на устранение симптомов основного психического заболевания, вызвавшего нарушения в статусе питания.

– 3 этап – **«реабилитационный»**.

Аналогичной точки зрения придерживаются и другие авторы [46], выделяющие три этапа в лечении НА:

1) этап интенсивного наблюдения и коррекции соматических осложнений;

2) основной этап лечения НА (в условиях стационара);

3) реабилитационный этап (в режиме амбулаторного наблюдения).

Длительность этапов может быть различна и определяется тяжестью психического и соматического состояния. С первых же дней пребывания в стационаре больным

назначается диета, которая разрабатывается индивидуально врачом-диетологом. Диета содержит необходимые питательные вещества в требуемых количествах с учетом степени белково-энергетической недостаточности у пациентки. Проводится ежедневный контроль массы тела, выпитой и выделенной жидкости. Обязательными условиями этого периода являются полупостельный режим и строгое медицинское наблюдение, необходимость которых обусловлена низкой комплаентностью пациенток, активной диссимуляцией и попытками сохранять патологические формы пищевого поведения (отказ от еды, вызывание аверсии после приема пищи, усиленные физические упражнения и прием мочегонных и слабительных).

Одним из достоверных признаков улучшения состояния у пациентов с НА является восстановление ИМТ и нормализация пищевого поведения. Рацион пациентов составляется с учетом физиологических особенностей и соматического статуса. Прежде, чем назначить лечебное питание, необходимо оценить пищевой статус пациента: для чего с помощью лабораторных (клинический, биохимический анализ крови) и инструментальных (ЭКГ, УЗИ) методов выявляется степень нехватки белков, жирных кислот и микроэлементов, оценивается функциональное состояние всех органов и систем [45]. Те компоненты и вещества, дефицит которых был выявлен при обследовании, обязательно вводят в рацион пациента, в дозах, соответствующих физиологическим потребностям в норме.

Диетологической программе предшествует коррекция метаболических и водно-электролитных нарушений: дегидратации, гипомagneмией, гипокальциемией, гипонатри- и калиемией (в особенности у больных, склонных вызывать у себя рвоту и злоупотребляющих слабительными средствами). Зачастую, необходимо назначение тиамина. Потребность в витамине резко возрастает в период возобновления питания за счет активизации углеводного обмена.

Риск развития осложнений остается высоким первые несколько недель лечения. Это связано с нарушением баланса жидкости и электролитного обмена, поэтому в это

время должен быть тщательный контроль за состоянием больного.

Расчет необходимой энергетической ценности питания проводится с учетом величин основного обмена:

- девочки 10-18 лет ($12.2 \times \text{вес}$) + 746 ккал;
- мальчики 10-18 лет ($17.5 \times \text{вес}$) + 651 ккал.

По мере восстановления адекватной переносимости пищи и с учетом индивидуальных особенностей пациента может быть назначен широкий ассортимент лечебных продуктов для энтерального питания с целью нутритивной поддержки.

В связи со сверхценно-бредовым отношением к массе тела, пациентам, страдающим нервной анорексией, рекомендуется назначать современные антипсихотики. Препаратом выбора [47] является эглонил (сульпирид), с учетом его фармакологических свойств: умеренной нейролептической активности в сочетании со стимулирующим и тимолептическим действием, а также антиэметическим эффектом. С учетом депрессивной симптоматики целесообразно назначение антидепрессантов, в том числе селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС). Поскольку при нервной анорексии возникает нарушение действия серотонина, а не его недостаток, то СИОЗС бесполезны при низкой массе тела, но после ее восстановления их применение является эффективным [48].

Прогноз лечения [49] при НА зависит от своевременной диагностики данного заболевания и обусловленных им осложнений, принятия адекватных лечебно-тактических решений и мотивирования больного к проведению терапии и выздоровлению. Примерно половина пациентов с нервной анорексией полностью восстанавливается, около 30% только частично, а 20% остаются хронически больными [50]. Кроме того, при нервной анорексии отмечается высокий уровень смертности от 1,7 до 5,9% [51]. По другим данным [52], выздоравливают около половины больных (40-55%), смертельный исход от 5% до 20%, в остальных случаях – рецидивирующее течение. Основными при-

чинами смерти при НА являются: пневмония, отек легкого, интеркуррентные инфекционные заболевания. Высокая смертность наблюдается также в результате суицида [53].

Заключение. Таким образом, анализ литературных данных показал, что распространенность НА в популяции составляет 1,2% среди женщин и 0,29% среди мужчин. Клиническая картина включает психические, эндокринные нарушения и расстройства пищеварения. Синдром НА встречается при различных формах психических заболеваний. Лечение пациентов с НА включает в себя несколько этапов. Неспецифический, или экстренный, этап направлен на ликвидацию тяжелых последствий недостаточности питания и проводится только в условиях стационара. Этап специфического лечения наступает после нормализации жизненно важных функций, при адекватной переносимости питания, прибавке в весе. Далее следует реабилитационный этап.

При НА наблюдается высокая смертность: 30–40% больных погибают через 10 и более лет от начала заболевания. Чем дольше протекает заболевание, тем выше риск смерти для больного. Основные причины смерти при НА составляют пневмония, отек легкого, интеркуррентные инфекции. Высокая летальность наблюдается также в результате суицида.

Прогноз лечения при НА зависит от своевременной диагностики данного заболевания и обусловленных им осложнений, принятия адекватных лечебно-тактических решений и мотивирования больного к проведению терапии и выздоровлению.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Грачев В.В., Косенко Н.А. Атипичные формы нервной анорексии и нервной булимии в подростковом возрасте // Социальная и клиническая психиатрия. 2015. Т. 25, № 2. С. 87-93.
2. Пырьева Е.А., Сорвачева Т.Н., Усачева Е.Л. Нервная анорексия: принципы диетотерапии // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2014. Т. 93, № 6. С. 171-175.

3. Мещеряков Б., Зинченко В., сост. Большой психологический словарь. СПб: Олма-пресс, 2004. 666 с.
4. Коркина М.В., Цивилько М.А., Марилов В.В. Нервная анорексия. Москва: Медицина, 1986. 176 с.
5. Корчинская Е.И., Краснов В.Н. Изменения электроэнцефалографических показателей при различных вариантах депрессий // Депрессия: психопатология, патогенез / под ред. О.П. Вертоградовой. Москва, 1980. С. 67-74. (Труды Моск. НИИ психиатрии; т. 91).
6. Львова Л.В. Добровольно отказываюсь // Провизор. 2005. N 14. С. 31-33.
7. Prevalence, heritability, and prospective risk factors for anorexia nervosa / C.M. Bulik [et al.] // Arch. Gen. Psychiatry. 2006. Vol. 63(3). P. 305-312.
8. Бобров А.Е. Психопатологические аспекты нервной анорексии // Альманах клинической медицины. 2015. Спецвып. 1. С. 13-23.
9. Smink F.R., van Hoeken D., Hoek H.W. Epidemiology of eating disorders: incidence, prevalence and mortality rates // Curr. Psychiatry Rep. 2012. Vol. 14(4). P. 406-414. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11920-012-0282-y>
10. Исаев Д.Н. Эмоциональный стресс. Психосоматические и соматопсихические расстройства у детей. Санкт-Петербург: Речь, 2005. 400 с.
11. Протокол (алгоритм) ведения пациентов с нервной анорексией в условиях стационара / Т.Н. Сорвачева [и др.]. М.: КСТ Интерфорум, 2015. 16 с.
12. Epidemiology and course of anorexia nervosa in the community / A. Keski-Rahkonen [et al.] // Am. J. Psychiatry. 2007. Vol. 164(8). P. 1259-1265. DOI: <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2007.06081388>
13. The prevalence and correlates of eating disorders in the National Comorbidity Survey Replication / J.I. Hudson [et al.] // Biol. Psychiatry. 2007. Vol. 61(3). P. 348-358. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.03.040>
14. Расстройства приема пищи у девушек молодого возраста / И.Н. Исаева [и др.] // Український журнал медицини, біології та спорту. 2017. N 2(4). С. 71-74.
15. Гусарова М.Т. Анорексия как фактор деструктуризации семьи [Электронный ресурс] // Молодой ученый. 2016. N 5. С. 855-859. URL: <https://moluch.ru/archive/109/26532> (дата обращения: 23.02.2018).
16. Perfectionism in anorexia nervosa: novel performance based evidence [Electronic] / S. Lloyd [et al.] // PLoS One. 2014. Vol. 9(10). Art. e111697. URL: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0111697> (дата обращения: 25.02.2018).
17. Коркина М.В., Цивилько М.А., Марилов В.В. К вопросу об атипичных формах нервной анорексии // Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 1977. N 3. С. 429-432.
18. Марилов В.В., Крип А.Х., Бен-Товим Д.И. Особенности личностного реагирования и психического состояния при нервной анорексии // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2000. N 2. С. 19-22.
19. Morris J., Twaddle S. Anorexia nervosa // BMJ. 2007. Vol. 334(7599). P. 894-898.
20. Ашурова Г.Ш. Особенности пищевого поведения и диетотерапии у больных нервной анорексией: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2004. 24 с.
21. Thornton L.M., Mazzeo S.E., Bulik C.M. The heritability of eating disorders: methods and current findings // Curr. Top. Behav. Neurosci. 2011. N 6. P. 141-156. DOI: https://doi.org/10.1007/7854_2010_91
22. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5 / American Psychiatric Association. 5th ed. Arlington, VA: American Psychiatric Association, 2013. 947 p.
23. Особенности синдрома нервной анорексии при пограничных психических заболеваниях / М.В. Коркина [и др.] // Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 1974. N 11. С. 1703-1710.
24. Ушаков Г.К. Пограничные нервно-психические расстройства. 2-е изд. Москва: Медицина, 1987. 304 с.
25. Обсессивно-фобические расстройства при нервной анорексии и булимии / М.А. Цивилько [и др.] // Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 1997. Т. 97, N 3. С. 16-19.
26. Особенности синдрома нервной анорексии при шизофрении / М.В. Коркина [и др.] // Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 1975. N 12. С. 1870-1874.
27. Mikołajczyk E., Samochowiec J. Cechy osobowości u pacjentek z zaburzeniami odżywiania // Psychiatria. 2004. Vol. 1(2). P. 91-95.
28. Артемьева М.С., Васильев Н.Г. Коморбидность нервной анорексии // Здоровье и образование в XXI веке. Сер. Медицина. 2012. Т. 14, N 1. С. 90-91.

29. Марилов В.В., Сологуб М.Б. Нервная анорексия у пациентки с сахарным диабетом 1-го типа // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2014. Т. 114, N 3(1). С. 82-86.
30. Outcome of anorexia nervosa: a case-control study / P.F. Sullivan [et al.] // Am. J. Psychiatry. 1998. Vol. 155(7). P. 939-946. DOI: <https://doi.org/10.1176/ajp.155.7.939>
31. Adolescent-onset anorexia nervosa: 18-year outcome / E. Wentz [et al.] // Br. J. Psychiatry. 2009. Vol. 194(2). P. 168-174. DOI: <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.107.048686>
32. Comorbidity between eating disorders and anxiety disorders: a review / N.T. Godart [et al.] // Int. J. Eat. Disord. 2002. Vol. 32(3). P. 253-270. DOI: <https://doi.org/10.1002/eat.10096>
33. Солодков П.В., Брюхин А.Е., Артемьева М.С. Варианты нарушения сексуального поведения при нервной анорексии // Здоровье и образование в XXI веке. 2010. Т. 12, N 5. С. 241.
34. Князевич О.Е. Клинико-динамические особенности ипохондрических расстройств у больных нервной анорексией: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2005. 22 с.
35. Артемьева М.С., Арсеньев А.Р. Патология волевой деятельности при нервной анорексии // Вестник РУДН. Сер. Медицина. 2010. N 4. С. 530-532.
36. Relapse from remission at two- to four-year follow-up in two treatments for adolescent anorexia nervosa / D. Le Grange [et al.] // J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry. 2014. Vol. 53(11). P. 1162-1167. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2014.07.014>
37. Outcome in AN adult patients: a 13-year follow-up in 484 patients / D. Rigaud [et al.] // Diabetes Metab. 2011. Vol. 37(4). P. 305-311. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2010.11.020>
38. Ступак Р., Бочавер А.А. Социально-психологические механизмы и культурно-исторические предпосылки возникновения анорексии // Психологический журнал. 2014. Т. 35, N 2. С. 83-90.
39. Келина М.Ю., Мешкова Т.А. Алекситимия и ее связь с пищевыми установками в неклинической популяции девушек подросткового и юношеского возраста [Электронный ресурс] // Клиническая и специальная психология. 2012. N 2. URL: <http://docplayer.ru/51010772-Aleksitimiya-i-ee-svyaz-s-pishchevymi-ustanovkami-v-neklinicheskoy-populyacii-devushek-podrostkovogo-i-yunosheskogo-vozrasta.html> (дата обращения: 23.02.2018).
40. Федорова А.А. Анорексия как социальная проблема современного общества // Российская наука и образование сегодня: проблемы и перспективы. 2015. N 4(7). С. 87-92.
41. Николаева Н.О. История и современное состояние исследований нарушений пищевого поведения: культурные и психологические аспекты [Электронный ресурс] // Клиническая и специальная психология. 2012. N 1. URL: http://psyjournals.ru/files/49969/psyclin_2012_1_Nikolaeva_N.pdf (дата обращения: 23.02.2018).
42. Davis C., Claridge G., Fox J. Not just a pretty face: physical attractiveness and perfectionism in the risk for eating disorders // Int. J. Eat. Disord. 2000. Vol. 27(1). P. 67-73. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-108X\(200001\)27:1<67::AID-EAT7>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-108X(200001)27:1<67::AID-EAT7>3.0.CO;2-F)
43. Международная классификация болезней (10-й пересмотр). Классификация психических и поведенческих расстройств. Клинические описания и указания по диагностике / под ред. Ю.Л. Нуллера, С.Ю. Циркина. СПб: Оверлайд, 1994. 300 с.
44. Артемьева М.С., Сулейманов Р.А. Социальные и правовые аспекты лечения нервной анорексии и нервной булимии // Вестник РУДН. Сер. Медицина. 2009. N 4. С. 623-625.
45. Нервная анорексия у детей и подростков: актуальные вопросы диагностики и лечения / А.И. Зубович [и др.] // Международный журнал педиатрии, акушерства и гинекологии. 2013. Т. 3, N 3. С. 75-84.
46. Особенности организации психиатрической помощи подросткам с нервной анорексией / А.А. Портнова [и др.] // Доктор. Ру. 2015. N 5-6(106-107). С. 60-62.
47. Казакова С.Е. Нозологическая принадлежность нервной анорексии // Психіатрія, неврологія та медична психологія. 2014. Т. 1, N 1(1). С. 16-19.
48. Initial evaluation, diagnosis, and treatment of anorexia nervosa and bulimia nervosa / B.C. Harrington [et al.] // Am. Fam. Physician. 2015. Vol. 91(1). P. 46-52.
49. Нервная анорексия: обзор и клинический случай / Л.В. Демешкина [et al.] // Гастроэнтерология. 2015. Т. 57, N 3. С. 59-65.
50. Steinhausen H.C. Outcome of eating disorders // Child. Adolesc. Psychiatr. Clin. N. Am. 2009. Vol. 18(1). P. 225-242.
51. Mortality rates in patients with anorexia nervosa and other eating disorders. A meta-analysis of 36 studies / J. Arcelus [et al.] // Arch. Gen. Psychiatry. 2011. Vol. 68(7). P. 724-731. DOI: [10.1001/archgenpsychiatry.2011.74](https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.74)
52. Hay P.J., Cho K. A qualitative exploration of influences on the process of recovery from

personal written accounts of people with anorexia nervosa // *Women Health*. 2013. Vol. 53(7). P. 730-740. DOI: <https://doi.org/10.1080/03630242.2013.821694>

53. Favaro A., Santonastaso P. Suicidality in eating disorders: clinical and psychological correlates // *Acta Psychiatr. Scand*. 1997. Vol. 95(6). P. 508-514. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.1997.tb10139.x>

Reference

1. Grachev VV, Kosenko NA. [Atypical forms of anorexia nervosa and bulimia nervosa in adolescence]. *Sotsial'naya i klinicheskaya psikhiatriya*. 2015;25(2):87-93. Russian.

2. Pyrieva EA, Sorvacheva TN, Usacheva EL. [Anorexia nervosa: principles of diet therapy]. *Pediatrica. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*. 2014;93(6):171-175. Russian.

3. Meshcheryakov B, Zinchenko V, compilers. [Great psychological dictionary]. St. Petersburg: Olma-press; 2004. 666 p. Russian.

4. Korkina MV, Civilko MA, Marilov VV. [Anorexia nervosa]. Moscow: Medicina; 1986. 176 p. Russian.

5. Korchinskaya EI, Krasnov VN. [Changes in electroencephalographic indices in various variants of depressions. *Depressiya: psikhopatologiya, patogenez*]. Vertogradovoy OP, editor. Moscow; 1980. P. 67-74. (Trudy Mosk. NII psikhiatrii; Vol. 91). Russian.

6. Lvova LV. [I voluntarily refuse]. *Provisor*. 2005;14:31-33. Russian.

7. Bulik CM, Sullivan PF, Tozzi F, et al. Prevalence, heritability, and prospective risk factors for anorexia nervosa. *Arch. Gen. Psychiatry*. 2006;63(3):305-312.

8. Bobrov AE. [Psychopathological aspects of anorexia nervosa]. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny*. 2015;1:13-23. Russian.

9. Smink FR, van Hoeken D, Hoek HW. Epidemiology of eating disorders: incidence, prevalence and mortality rates. *Curr. Psychiatry Rep*. 2012;14(4):406-414. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11920-012-0282-y>

10. Isaev DN. [Emotional stress. Psychosomatic and somatopsychic disorders in children]. St. Petersburg: Rech'; 2005. 400 p. Russian.

11. Sorvacheva TN, Pyreva EA, Koltunov IE, et al. [Protocol (algorithm) for management of patients with anorexia nervosa in hospital settings]. Moscow: KST Interforum; 2015. 16 p. Russian.

12. Keski-Rahkonen A, Hoek HW, Susser ES, et al. Epidemiology and course of anorexia nervosa in the community. *Am. J. Psychiatry*.

2007;164(8):1259-1265. DOI: <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2007.06081388>

13. Hudson JI, Hiripi E, Pope HG, et al. The prevalence and correlates of eating disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Biol. Psychiatry*. 2007;61(3):348-358. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.03.040>

14. Isaeva IN, Makarova EM, Litovchenko EV, et al. [Disorders of eating in young girls]. *Ukrains'kiy zhurnal meditsini, biologii ta sportu*. 2017;2(4):71-74. Russian.

15. Gusarova MT. Anoreksiya kak faktor destrukturizatsii sem'i [Anorexia as a factor of family deconstructurization]. *Molodoj uchenyj* [Internet]. 2016 [cited 2018 Feb 23];5:855-859. Available from: <https://moluch.ru/archive/109/26532>. Russian.

16. Lloyd S, Yiend J, Schmidt U, et al. Perfectionism in anorexia nervosa: novel performance based evidence. *PLoS One* [Internet]. 2014 [cited 2018 Feb 25];9(10). Art. e111697. Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0111697>.

17. Korkina MV, Civilko MA, Marilov VV. [To the question of atypical forms of anorexia nervosa]. *Zhurnal nevropatologii i psikhiatrii im. S.S. Korsakova*. 1977;3:429-432. Russian.

18. Marilov VV, Krisp AH, Ben-Tovim DI. [Features of personal response and mental state in anorexia nervosa]. *Zhurnal nevrologii i psikhiatrii im. S.S. Korsakova*. 2000;2:19-22. Russian.

19. Morris J, Twaddle S. Anorexia nervosa. *BMJ*. 2007;334(7599):894-898.

20. Ashurova GSh. [Features of food behavior and diet therapy in patients with anorexia nervosa] [dissertation]. Moscow; 2004. Russian.

21. Thornton LM, Mazzeo SE, Bulik CM. The heritability of eating disorders: methods and current findings. *Curr. Top Behav. Neurosci*. 2011;6:141-156. DOI: https://doi.org/10.1007/7854_2010_91

22. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5. 5th ed. Arlington, VA: American Psychiatric Association; 2013. 947 p.

23. Korkina MV, Civilko MA, Kareva MA, et al. [Features of the syndrome of anorexia nervosa in borderline mental illnesses]. *Zhurnal nevropatologii i psikhiatrii im. S.S. Korsakova*. 1974;11:1703-1710. Russian.

24. Ushakov GK. [Borderline neuropsychiatric disorders. 2nd ed]. Moscow: Meditsina; 1987. 304 p. Russian.

25. Tsivil'ko MA, Korkina MV, Brjuhin AE, et al. [Obsessive-phobic disorders in anorexia ner-

vosa and bulimia]. Zhurnal nevropatologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova. 1997;97(3):16-19. Russian.

26. Korkina MV, Civilko MA, Kareva MA, et al. [Features of the syndrome of anorexia nervosa in schizophrenia]. Zhurnal nevropatologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova. 1975;12:1870-1874. Russian.

27. Mikołajczyk E, Samochowiec J. Cechy osobowości u pacjentek z zaburzeniami odżywiania. Psychiatria. 2004;1(2):91-95.

28. Artemeva MS, Vasil'ev NG. [Comorbidity of anorexia nervosa]. Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke. Ser. Meditsina. 2012;14(1):90-91. Russian.

29. Marilov VV, Sologub MB. [Anorexia nervosa in a patient with type 1 diabetes mellitus]. Zhurnal nevrologii i psikiatrii. 2014;3:82-86. Russian.

30. Sullivan PF, Bulik CM, Fear JL, et al. Outcome of anorexia nervosa: a case-control study. Am. J. Psychiatry. 1998;155(7):939-946. DOI: <https://doi.org/10.1176/ajp.155.7.939>

31. Wentz E, Gillberg IC, Anckarsäter H, et al. Adolescent-onset anorexia nervosa: 18-year outcome. Br. J. Psychiatry. 2009;194(2):168-174. DOI: <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.107.048686>

32. Godart NT, Flament MF, Perdereau F, et al. Comorbidity between eating disorders and anxiety disorders: a review. Int. J. Eat. Disord. 2002;32(3):253-270. DOI: <https://doi.org/10.1002/eat.10096>

33. Solodkov PV, Bryukhin AE, Artem'eva MS. [Variants of sexual behavior disorders in anorexia nervosa]. Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke. 2010;12(5):241. Russian.

34. Knjazevich OE. [Clinico-dynamic features of hypochondriacal disorders in patients with anorexia nervosa] [dissertation]. Moscow; 2005. Russian.

35. Artemeva MS, Arsenev AR. [Pathology of volitional activity in anorexia nervosa]. Vestnik RUDN. Ser. Meditsina. 2010;4:530-532. Russian.

36. Le Grange D, Lock J, Accurso EC, et al. Relapse from remission at two- to four-year follow-up in two treatments for adolescent anorexia nervosa. J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry. 2014;53(11):1162-1167. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2014.07.014>

37. Rigaud D, Pennacchio H, Bizeul C, et al. Outcome in AN adult patients: a 13-year follow-up in 484 patients. Diabetes Metab. 2011;37(4):305-311. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2010.11.020>

38. Stupak R, Bochaver AA. [Socio-psychological mechanisms and cultural-historical background of anorexia]. Psikhologicheskii zhurnal. 2014;35(2):83-90. Russian.

39. Kelina MJu, Meshkova TA. [Alexitimia and its relationship with food plants in the non-clinical population of adolescent girls and adolescents]. Klinicheskaja i special'naja psihologija: elektronnyj zhurnal [Internet]. 2012 [cited 2018 Feb 23];2. Available from: <http://docplayer.ru/51010772-Aleksitimiya-i-ee-svyaz-s-pishchevymi-ustanovkami-v-neklinicheskoy-populyacii-devushek-podrostkovogo-i-yunosheskogo-vozrasta.html>. Russian.

40. Fedorova AA. [Anorexia as a social problem of modern society]. Rossiyskaya nauka i obrazovanie segodnya: problemy i perspektivy. 2015;4(7):87-92. Russian.

41. Nikolaeva NO. [History and current status of studies of eating disorders: cultural and psychological aspects]. Klinicheskaja i special'naja psihologija [Internet]. 2012 [cited 2018 Feb 23];1. Available from: http://psyjournals.ru/files/49969/psyclin_2012_1_Nikolaeva_N.pdf. Russian.

42. Davis C, Claridge G, Fox J. Not just a pretty face: physical attractiveness and perfectionism in the risk for eating disorders. Int. J. Eat. Disord. 2000;27(1):67-73. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-108X\(200001\)27:1<67::AID-EAT7>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-108X(200001)27:1<67::AID-EAT7>3.0.CO;2-F)

43. [International Classification of Diseases (10th revision). Classification of mental and behavioral disorders. Clinical descriptions and guidelines for diagnosis]. Nullera YuL, Cirkina SYu, editors. St. Petersburg: Overlayd; 1994. 300 p. Russian.

44. Artem'eva MS, Suleimanov RA. [Social and legal aspects of the treatment of anorexia nervosa and bulimia nervosa]. Vestnik RUDN. Ser. Meditsina. 2009;4:623-625. Russian.

45. Zubovich AI, Kuz'micheva ON, Strokov TV, et al. [Anorexia nervosa in children and adolescents: topical issues of diagnosis and treatment]. Mezhdunarodnyj zhurnal pediatrii, akusherstva i ginekologii. 2013;3(3):75-84. Russian.

46. Portnova AA, Usacheva EL, Serebrovskaya OV, et al. [Features of the organization of psychiatric care for adolescents with anorexia nervosa]. Doktor. Ru. 2015;5-6(106-107):60-62. Russian.

47. Kazakova SE. [Nosological affiliation of anorexia nervosa]. Psikiatrija, nevrologiya ta medichna psihologiya. 2014;1(1(1)):16-19. Russian.

48. Harrington BC, Jimerson M, Haxton C, et al. Initial evaluation, diagnosis, and treatment of anorexia nervosa and bulimia nervosa. *Am. Fam. Physician.* 2015;91(1):46-52.

49. Demeshkina LV, Serdyuchenko ON, Ptushkina DA, et al. [Anorexia nervosa: review and clinical case]. *Gastroenterologiya.* 2015;57(3): 59-65. Russian.

50. Steinhausen HC. Outcome of eating disorders. *Child. Adolesc. Psychiatr. Clin. N. Am.* 2009;18(1):225-242.

51. Arcelus J, Mitchell AJ, Wales J, et al. Mortality rates in patients with anorexia nervosa and other eating disorders. A meta-analysis of 36 studies. *Arch. Gen. Psychiatry.* 2011;68(7):724-731. DOI: 10.1001/archgenpsychiatry.2011.74

52. Hay PJ, Cho K. A qualitative exploration of influences on the process of recovery from personal written accounts of people with anorexia nervosa. *Women Health.* 2013;53(7):730-740. DOI: <https://doi.org/10.1080/03630242.2013.821694>

53. Favaro A, Santonastaso P. Suicidality in eating disorders: clinical and psychological correlates. *Acta Psychiatr. Scand.* 1997;95(6):508-514. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.1997.tb10139.x>

Информация об авторе

Лилия Ивановна Захарова, кандидат медицинских наук, доцент, кафедра психиатрии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», E-mail: zaharova1@r46.ru.

Information about the author

Liliya I. Zakharova, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Psychiatry, Kursk State Medical University, E-mail: zaharova1@r46.ru.

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

Статья принята к публикации 7 декабря 2018 г.
Accepted for publication 2018 December 7.



УДК 576.08

DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-9

И.Б. Антонов

**Экспрессия белков ММР при старении миокарда в норме
и при дилатационной кардиомиопатии**

Автономная научная некоммерческая организация высшего образования научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», просп. Динамо, д. 23, г. Санкт-Петербург, 197110, Российская Федерация

Автор для переписки: И.Б. Антонов (ibg@gerontology.ru)

Аннотация

Актуальность: Матриксные металлопротеиназы (ММР), их ингибитор TIMP, молекулы адгезии, сиртуины и маркеры апоптоза являются одними из сигнальных молекул, имеющих важное значение при прогнозировании развития дилатационной кардиомиопатии. **Цель исследования:** Изучить экспрессию белков ММР при старении миокарда в норме и при дилатационной кардиомиопатии. **Материалы и методы:** Исследование проведено с использованием аутопсийного материала миокарда людей разных возрастных групп с дилатационной кардиопатией и без сердечно-сосудистой патологии. Материал получали в условиях стерильности на базе операционного блока. Образец ткани после отделения сразу опускали в стерильную емкость, содержащую физиологический раствор. Контролем служила культура нормальных кардиомиоцитов человека (линия GirardiHeart), полученная из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Для иммуноцитохимического исследования культур и иммуногистохимического анализа аутопсийного материала применяли следующие первичные моноклональные антитела: ММР-2 (Dako, США) и ММР-9 (Dako, США). Морфометрическое изучение полученных структур проводили при помощи системы компьютерного анализа микроскопических изображений. **Результаты:** Установлено, что изменения площади экспрессии ММР-2, ММР-9 в аутопсийном материале миокарда в норме не наблюдалось. При ДК площадь экспрессии ММР-2 увеличивалась в 5,7 раза у пациентов средней возрастной группы, в 6 раз – у людей в пожилом возрасте, в 6,8 раза – у лиц старшего возраста относительно подобного показателя в норме. Содержание ММР-9 в миокарде у пациентов с ДК всех возрастных групп повышалась в 4,5 раза по сравнению с соответствующей возрастной нормой. В культурах нормального миокарда при их старении экспрессия ММР-9 достоверно не изменялась. **Заключение:** Ключевыми маркерами, характеризующими наличие дилатационной кардиомиопатии у людей разного возраста в аутопсийном и культуральном материале являются матриксные металлопротеиназы.

Ключевые слова: экспрессия; старение; миокард; кардиомиопатия

Информация для цитирования: Антонов И.Б. Экспрессия белков ММР при старении миокарда в норме и при дилатационной кардиомиопатии // Научные результаты биомедицинских исследований. 2019. Т. 5, № 1. С. 122-130 [Antonov IB. Expression of MMP proteins in the aging of the myocardium in normal conditions and dilated cardiomyopathy. Research Results in Biomedicine. 2019;5(1):122-130 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-9

Igor B. Antonov

Expression of MMP proteins in the aging of the myocardium in normal conditions and dilated cardiomyopathy

St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology,
23 Dinamo Ave., St. Petersburg, 197110, Russia
Corresponding author: Igor B. Antonov (ibg@gerontology.ru)

Abstract

Background: Matrix metalloproteinases (MMP), their TIMP inhibitor, adhesion molecules, sirtuins, and apoptosis markers are among the signaling molecules that may have an important prognostic value in dilated cardiomyopathy. **The aim of the study:** To study the expression of MMP proteins during myocardial aging in normal conditions and in dilated cardiomyopathy. **Materials and methods:** The work was performed on autopsy material of the myocardium of people of different ages with dilated cardiomyopathy and without cardiovascular pathology. The material was taken under sterile conditions of the operating unit. Immediately after taking a sample of tissue, it was placed in a sterile container with saline. The control was the culture of normal human cardiomyocytes (line Girardi Heart, obtained from the cell culture collection of the Institute of Cytology RAS (St. Petersburg)). For immunocytochemical studies of cultures and immunohistochemical analysis of autopsy material, the following primary monoclonal antibodies were used: MMP-2 (Dako, USA) and MMP-9 (Dako, USA). The morphometric study of the structures obtained was performed using a computer-aided microscopic image analysis system. **Results:** It was established that the area changes expression of MMP-2, MMP-9 was not normally observed in the myocardial autopsy material. In DC, the area of MMP-2 expression increased 5.7 times in middle-aged people, 6 times in elderly people and 6.8-fold in elderly patients compared with the corresponding indicator in normal conditions. The expression of MMP-9 in the myocardium in patients with DK of all age groups increased by 4.5 times compared with the corresponding age norm. In normal myocardial cultures with their aging, the expression of MMP-9 did not change significantly. **Conclusion:** Matrix metalloproteinases are the key markers characterizing the presence of dilated cardiomyopathy in people of different ages in the autopsy and cultural material.

Keywords: expression; aging; myocardium; cardiomyopathy.

Введение. Патологии сердца и сосудов стоят на лидирующих позициях в списке заболеваний, характеризующихся высокой степенью риска летального исхода [1].

По результатам статистического анализа Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), 35 и более процентах случаев смертность лиц старших возрастных групп обусловлена патологией сердца и сосудов. Среди заболеваний сердечно-сосудистой системы у пациентов, имеющих возраст более 50 лет, достаточно часто встречается дилатационная кардиомиопатия (ДК) [2, 3, 4, 5]. Предпосылками ДК являются дилатация сердечных камер, систолическая дис-

функция, отмечаемые в большинстве случаев в левом желудочке [6, 7, 8].

В настоящее время поиск сигнальных молекул для выявления у людей разного возраста ДК имеет важное медико-социальное значение. Матриксные металлопротеиназы (ММП), их ингибитор TIMP, молекулы адгезии, сиртуины и маркеры апоптоза рассматриваются как перспективные сигнальные молекулы, изучение которых позволит расширить возможности по диагностике и прогнозированию развития ДК. ММП являются ферментами, обладающими протеолитической функцией. Эти соединения активно участвуют в процессах

ремоделирования и репарации тканей соединительного типа, составляющей основу сердечно-сосудистой и дыхательной систем [9, 10, 11, 12, 13].

Цель исследования – изучить экспрессию белков ММП при старении миокарда в норме и при дилатационной кардиомиопатии.

Материалы и методы исследования. Работа проведена на аутопсийном материале, полученном из сердечной мышцы пациентов разных возрастных групп с ДК, а также людей без сердечно-сосудистой патологии. Образцы получали из СПб ГБУЗ «Городская больница святого великомученика Георгия» (С.-Петербург). Все пробы разделяли на группы согласно возрастной классификации ВОЗ: 1 – люди среднего возраста (45-59 лет), 2 – люди пожилого возраста (60-74 года), 3 – люди старческого возраста (75-89 лет).

Нормальный аутопсийный материал был получен от людей, не имевших сердечно-сосудистой патологии и погибших от других причин.

Ткань миокарда человека для создания культур (диаметр 0,2 см, 4 фрагмента) была забрана от 3-х пациентов мужского пола среднего возраста ($52,3 \pm 2,6$) с ДК при биопсии сердца, полученных в Клинике сердечно-сосудистой хирургии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (С.-Петербург).

Извлечение образцов ткани осуществляли в стерильных условиях на базе операционного блока. После получения материала клетки сразу опускали в стерильную емкость, содержащую физиологический раствор. Контролем служила культура нормальных кардиомиоцитов человека (линия GirardiHeart, полученная из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (С.-Петербург)). Культуральная среда для кардиомиоцитов состояла из 86,5% EMEM, 10% FBS, 1% NEAA, 1,5% HEPES, 1% PES, L-глутамина. Все культуры выращивали на протяжении 3 пассажей («молодые» клеточные культуры) и 10 пассажей («старые» клеточные культуры). 10 пассаж был выбран в качестве «старых» культур экспериментально, т.к. при последующих пересевах боль-

шая часть клеток культуры вступала в апоптоз.

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

В стерильных условиях ламинарного шкафа образцы были извлечены из транспортировочной емкости и помещены в чашку Петри, которая имела диаметр 7 см. Образцы обрабатывали сбалансированным раствором Хенкса (HBSS), содержащим соли и антибиотики, такие как пенициллин, стрептомицин (в концентрации 5 мг/мл), в течение 3 раз, чтобы смыть присутствующие изначально кровь и секрет.

С использованием стерильных ножниц материал измельчали до небольших кусочков объемом 1-2 мм³. Образцы помещали в пробирки для центрифугирования, имеющие объем 15 мл, сюда же добавляли 10 мл HBSS, содержащей 0,2% раствор коллагеназы I (Gibco, активность 205 ед/мг). Около 30 секунд пробы откручивали с использованием вортекса. Далее ткань ставили на инкубацию в термостат при 37°C на 20 минут. Образовавшиеся при этом агрегаты клеток диспергировали путем пропускания образцов через пипетку (пипетировали). 8 мл супернатанта с клетками осаждали в течение 5 минут, затем центрифугировали на протяжении 5 минут при 400g. Далее убирали надосадочную жидкость, осадок ресуспендировали в среде M199 (объемом 2 мл), содержащей 10% эмбриональную бычью сыворотку и антибиотик. Выделение проводили циклически, повторяя процедуру 3 раза. Растворенный осадок помещали в отдельную емкость. Жизнеспособности клеток оценивали с использованием трипанового синего. Краситель добавляли к аликвоте объемом 2 мл, взятой из пробирки с 6 мл накопленных клеток, в равных пропорциях. Считали процентное содержание живых клеток с использованием гемоцитометра (камеры Горяева).

Первичную клеточную культуру выделяли в предварительно обработанных раствором фибриногена (Gibco) чашках Петри (Sarstedt). Далее культивировали материал в обработанных флаконах объемом по 50 мл (Sarstedt 25 см²). Культивирование проводи-

ли при добавлении во флаконы по мл культуральной среды. В чашки Петри диаметром 3,5 см вливали по 3 мл культуральной среды. При использовании 24-луночного планшета в каждую лунку помещали по 1 мл среды. Стадии монослоя первичная клеточная культура достигала на 5-7 день, в это время ее пересеивали. После наступления состояния монослоя через 3 дня на 4-й сутки осуществляли пассирование. Культивирование клеток проводилось до 3 и 10 пассажа.

С целью иммуноцитохимического исследования культур и иммуногистохимического изучения образцов аутопсийного материала применяли следующие моноклональные антитела первичного типа: ММР-2 (Dako, США) и ММР-9 (Dako, США). Окрашивание препаратов проводилось по стандартному протоколу.

Морфометрическое изучение полученных структур проводили с использованием специального компьютерного комплекса для обработки изображений, полученных с помощью микроскопа. Комплекс включал в себя следующие элементы: микроскоп Olympus BX40, цифровую камеру Olympus, персональный компьютер, базирующийся на IntelPentium 5, программное обеспечение «VideotestMorphology 5.2». В каждой пробе обрабатывали не менее 5 полей зрения при увеличении $\times 200$.

Экспрессию для маркеров с цитоплазматическим действием оценивали по площади, равной отношению площади покрытого иммунопозитивными клетками участка к общей площади клеток, расположенных в поле зрения. Для маркеров с ядерным выражением площадь экспрессии рассчитывали как отношение площади участка, содержащего иммунопозитивные ядра, к общей площади ядер, встречающихся в поле зрения. Площадь экспрессии измеряли в процентном отношении.

Полученные результаты обрабатывали методами вариационной статистики использованием программы Statistica 11.0.

Вычисляли по каждой выборке среднее арифметическое, стандартное отклонение, доверительный интервал. Для каждой выборки доказано нормальное распределение значений. Статистическую однородность разных выборок проверяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса (непараметрического однофакторного дисперсионного анализа). По критерию Стьюдента критический уровень достоверности нулевой гипотезы об отсутствии различий считали равным 0,01.

Результаты исследования и их обсуждение. В результате эксперимента было установлено, что площадь экспрессии молекул ММР-2 в аутопсийных образцах сердечной мышцы у пациентов средней, пожилой и старческой возрастной группы составила $0,74 \pm 0,18\%$, $0,82 \pm 0,22\%$ и $0,80 \pm 0,20\%$ соответственно, достоверных отличий не выявлено. При развитии ДК выраженность данного маркера значительно повысилась – в 5,7 раз у лиц средней возрастной группы, в 6 раз – у пожилых пациентов, в 6,8 раз – у пациентов старческого возраста. При ДК площадь экспрессии ММР-2 не зависела от возраста (рис. 1).

Экспрессия ММР-2 в «молодой» культуре миокарда в норме составила $0,40 \pm 0,06\%$. В «старой» культуре миокарда в норме этот показатель уменьшился в 1,5 раза и был равен $0,27 \pm 0,04\%$. При оценке экспрессии сигнальной молекулы ММР-2 при развитии ДК установили, что показатель ее площадь возрос в 5,4 раза в «молодых» клеточных культурах ($2,17 \pm 0,11\%$), в 8,9 раз – в «старых» клеточных культурах ($2,39 \pm 0,14\%$) по сравнению с нормой (рис. 2).

Площадь экспрессии ММР-9 в аутопсийном материале миокарда в норме у людей среднего, пожилого и старческого возраста составила соответственно $1,76 \pm 0,24\%$, $1,80 \pm 0,20\%$ и $1,85 \pm 0,27\%$ и достоверно не различалась (рис. 3).

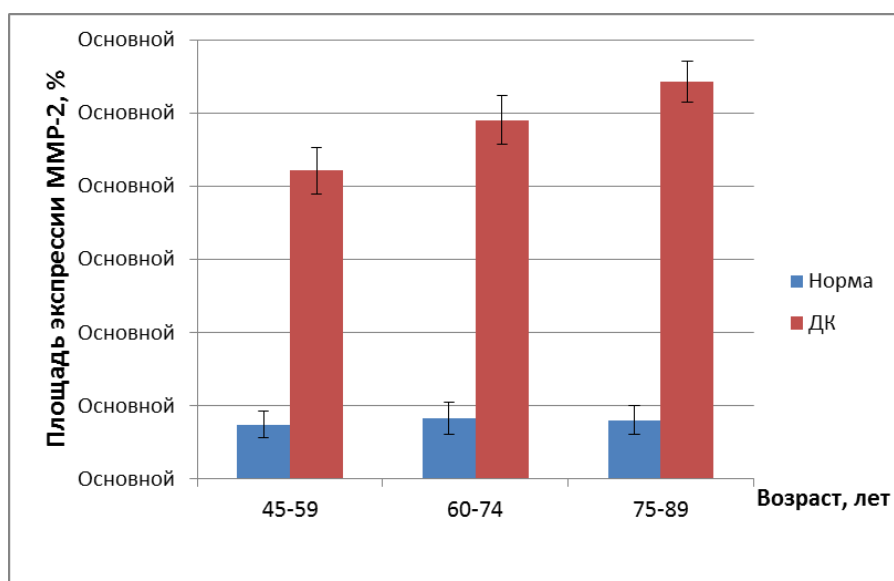


Рис. 1. Экспрессии MMP-2 в аутопсийном материале миокарда в норме и при дилатационной кардиомиопатии

* – $p < 0,05$ по сравнению с соответствующим показателем в группе 45-59 лет;

** – $p < 0,05$ по сравнению с соответствующим показателем в норме.

Fig. 1. Expression of MMP-2 in the autopsy myocardial material in normal conditions and in dilated cardiomyopathy

* – $p < 0.05$ compared with the corresponding indicator in the group of 45-59 years;

** – $p < 0.05$ compared with the corresponding indicator in the norm.

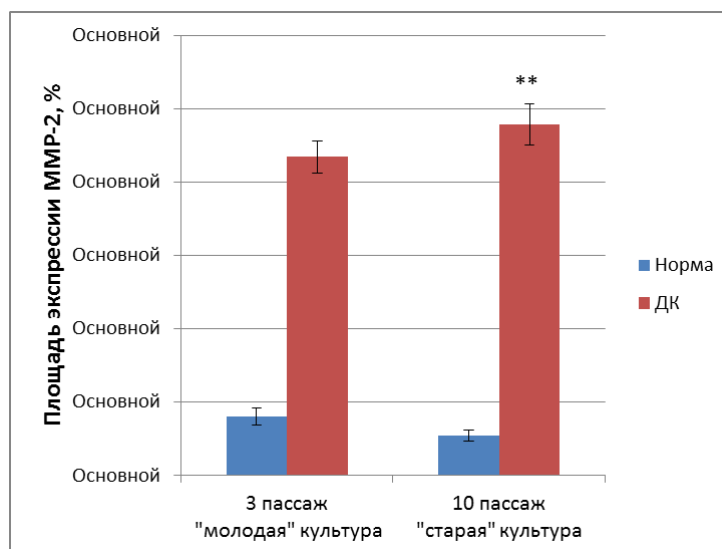


Рис. 2. Экспрессия MMP-2 в культуре миокарда в норме и при дилатационной кардиомиопатии

* – $p < 0,05$ по сравнению с соответствующим показателем в «молодой» культуре;

** – $p < 0,05$ по сравнению с соответствующим показателем в норме.

Fig. 2. Expression of MMP-2 in the myocardial culture in normal conditions and in dilated cardiomyopathy

* – $p < 0.05$ compared with the corresponding indicator in the "young" culture;

** – $p < 0.05$ compared with the corresponding indicator in the norm.

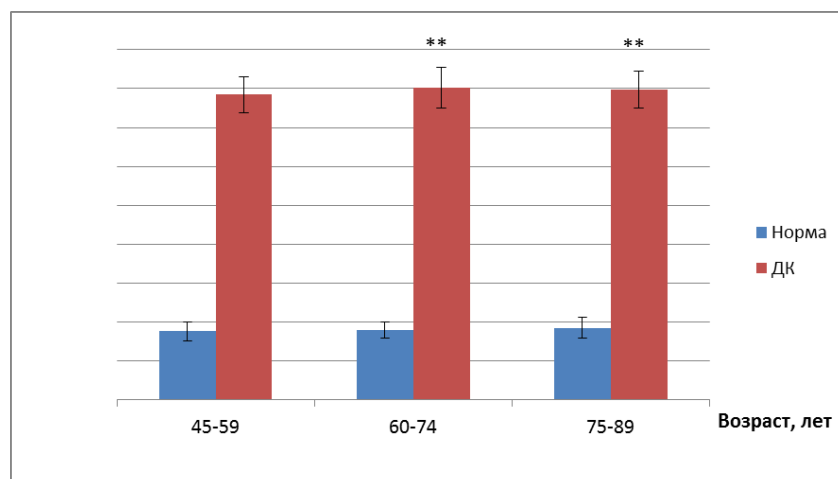


Рис. 3. Экспрессии ММР-9 в аутопсийном материале миокарда в норме и при дилатационной кардиомиопатии

** – $p < 0,05$ по сравнению с соответствующим показателем в норме.

Fig. 3. Expression of MMP-9 in the autopsy myocardial material in normal conditions and in dilated cardiomyopathy

** – $p < 0.05$ compared with the corresponding indicator in the norm.

Выявлено увеличение в 4,5 раза экспрессии молекул ММР-9 при развитии ДК у пациентов всех возрастов. С возрастом площадь выражения молекул ММР-9 при ДК достоверно не изменялась.

Площадь экспрессии ММР-9 в «молодой» культуре миокарда в норме составила $0,69 \pm 0,13\%$. В «старой» культуре экспрес-

сия этой сигнальной молекулы достоверно не изменилась и была равна $0,74 \pm 0,10\%$. Экспрессия ММР-9 в культурах, полученных от пациентов с ДК, увеличилась в «молодых» культурах в 5,7 раза по сравнению с соответствующей нормой и составила $3,94 \pm 0,22\%$, а в «старых» культурах – в 6 раз до $4,50 \pm 0,18\%$ (рис. 4).

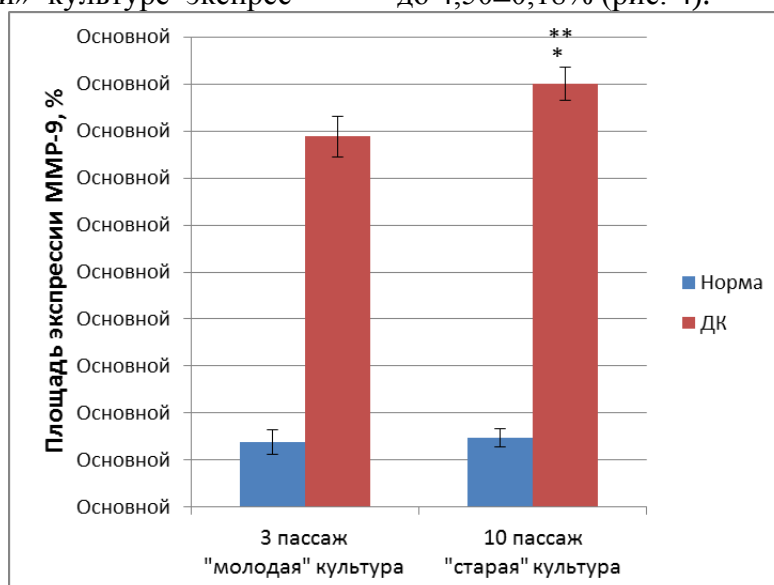


Рис. 4. Экспрессия ММР-9 в культуре миокарда в норме и при дилатационной кардиомиопатии

* – $p < 0,05$ по сравнению с соответствующим показателем в "молодой" культуре;

** – $p < 0,05$ по сравнению с соответствующим показателем в норме.

Fig. 4. Expression of MMP-9 in the myocardial culture in normal conditions and in dilated cardiomyopathy

* – $p < 0.05$ compared with the corresponding indicator in the "young" culture;

** – $p < 0.05$ compared with the corresponding indicator in the norm.

Изменение площади экспрессии ММР-9 в аутопсийном материале миокарда и в культуре миокарда имеет схожую тенденцию в норме и при ДК.

Установлено, что изменения площади экспрессии ММР-2, ММР-9 в аутопсийном материале миокарда в норме не наблюдалось. При ДК площадь экспрессии ММР-2 увеличивалась в 5,7 раза у людей средней возрастной группы, в 6 раз – у пожилых пациентов, в 6,8 раза – у людей старческого/го возрастного периода относительно соответствующего показателя в норме. Кроме того, наблюдалось увеличение экспрессии маркера ММР-2 в 1,5 раза при старении культуры кардиомиоцитов в норме. При этом в кардиомиоцитах, полученных от пациентов с ДК, в «молодых» культурах экспрессия ММР-2 повышалась в 5,4 раза, а в «старых» культурах – в 8,9 раза по сравнению с нормой. Полученные нами данные хорошо согласуются с результатами, описанными другими исследователями. Известно, что при ДК происходит повышение синтеза ММР-2 [14, 15].

Экспрессия ММР-9 в миокарде у пациентов с ДК всех возрастных групп повышалась в 4,5 раза по сравнению с соответствующей возрастной нормой. В культурах нормального миокарда при их старении экспрессия ММР-9 достоверно не изменялась. В культурах миокарда, полученного от пациентов с ДК, экспрессия ММР-9 повышалась в 5,7 и 6 раз соответственно для «молодых» и «старых» культур. В предыдущих исследованиях по данным литературы было обнаружено, что отмечалась повышенная экспрессия ММР-9 при наличии сердечно-сосудистых патологий, в том числе при развитии ДК, что соответствует полученными нами результатам [14, 16, 17]. Предполагается, что усиление экспрессии молекул ММР-2 и ММР-9 обусловлено тем, что данные металлопротеиназы относятся к полифункциональным протеинам и играют важную роль в таких процессах, как ангиогенез и апоптоз, которые патологически изменяются при развитии ДК [18, 19, 20].

Заключение. Ключевыми маркерами, характеризующими наличие дилатационной кардиомиопатии у людей разного возраста в

аутопсийном и культуральном материале являются матриксные металлопротеиназы.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Сравнительная характеристика профилактики сердечно-сосудистых заболеваний в Украине и Европе по данным евроaspire IV: госпитальная линия / В.Н. Коваленко [и др.] // Артериальная гипертензия. 2016. N 1(45). С. 29-34.
2. Жиров И.В., Осмоловская Ю.Ф., Терещенко С.Н. По следам последних клинических рекомендаций. Антагонисты минералокортикоидных рецепторов // Медицинский совет. 2015. N 4. С. 46-51.
3. Modernized classification of cardiac antiarrhythmic drugs / M. [et al.] // Circulation. 2018. Vol. 138(17). P. 1879-1896. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035455>
4. McKenney J.R. Clinical lipidology: a companion to Braunwald's Heart Disease // Statins. 2015. N 1. P. 227-256. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-141605469-6.50026-3>
5. Rader D.J. Human genetics of atherosclerotic 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>
6. Башкирева А.С., Артамонова В.Г. Пептидергическая коррекция невротических состояний у водителей грузового автотранспорта // Успехи геронтологии. 2012. Т. 25, N 4. С. 718-728.
7. Зотова Л.А. Дилатационная кардиомиопатия: современный взгляд на заболевание // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2013. N 1. С. 151-157.
8. 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>
9. Анализ дифференциальной экспрессии матриксных металлопротеиназ в стабильной и нестабильной атеросклеротических бляшках методом полногеномного секвенирования РНК: пилотное исследование / Д.Е. Иваношук [и др.] // Российский кардиологический журнал. 2018. N 23(8). С. 52-58.
10. Козлов К.Л., Солдатов В.М., Полякова В.О. Молекулярные аспекты старения сосу-

дов in vitro // Молекулярная медицина. 2015. N 3. С. 53-56.

11. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Елашкина Е.В. Молекулярные аспекты антиатеросклеротического действия коротких пептидов // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2014. N 3. С. 185-189.

12. 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>

13. Kraskovskaya N.A., Kukanova E.O., Linkova N.S. Tripeptides restore the number of neuronal spines under conditions of in vitro modeled alzheimer's disease // Bull Exp Biol Med. 2017. Vol. 163(4). P. 550-553. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-017-3882-z>

14. Bornstein P. Matricellular proteins: an overview // J. Cell Commun Signal. 2009. Vol. 3(3-4). P.163-165. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12079-009-0069-z>

15. Пальцев М.А., Солдатов В.М., Козлов К.Л. Экспрессия сигнальных молекул в эндотелии аорты при старении и атеросклерозе // Молекулярная медицина. 2015. N 5. С. 12-15.

16. Эффективность пептидного биорегулятора сосудов в комплексной терапии васкулогенной эректильной дисфункции у лиц старших возрастных групп / К.В. Китачев [и др.] // Успехи геронтологии. 2014. Т. 27, N 1. С. 156-159.

17. 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>

18. Китачев К.В., Сазонов А.Б., Козлов К.Л. Роль вазоактивного пептида в лечении хронической артериальной недостаточности нижних конечностей // Успехи геронтологии. 2013. Т. 26, N 2. С. 292-296.

19. 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.

20. 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>

References

1. Kovalenko VN, Dolzhenko MN, Nesukay EG, et al. [Comparative characteristics of the prevention of cardiovascular diseases in Ukraine and Europe according to euroaspire IV: hospital line]. Arterialnaya gipertenziya. 2016;1(45):29-34. Russian.

2. Zhirov IV, Osmolovskaya YuF, Terechenko SN. [In the wake of the latest clinical recommendations. Mineralocorticoid receptor antagonists]. Meditsinskiy sovet. 2015;4:46-51. Russian.

3. 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>

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

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

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

7. Zotova LA. [Dilated cardiomyopathy: a modern view of the disease]. Rossiyskiy medikobiologicheskii vestnik imeni akademika I.P. Pavlova. 2013;1:151-157. Russian.

8. 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>

9. Ivanoschuk DE, Ragino YuI, Shahtshneyder EV, et al. [Analysis of differential expression of matrix metalloproteinases in stable and unstable atherosclerotic plaques by the method of genome-wide RNA sequencing: a pilot study]. Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal. 2018;23(8):52-58. Russian.

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

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

12. 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>

13. Kraskovskaya NA, Kukanova EO, Linkova NS. Tripeptides restore the number of neuronal spines under conditions of in vitro modeled alzheimer's disea. Bull Exp Biol Med. 2017;163(4):550-553. DOI:

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

14. Bornstein P. Matricellular proteins: an overview. J. Cell Commun Signal. 2009;3(3-4):163-165. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12079-009-0069-z>

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

16. 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]. Achievements of gerontology. 2014;27(1):156-159. Russian.

17. 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>

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

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

20. 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>

Информация об авторе

Игорь Борисович Антонов, научный сотрудник лаборатории возрастной патологии сердечно-сосудистой системы отдела клинической геронтологии и гериатрии, АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», E-mail: ibg@gerontology.ru.

Information about the author

Igor B. Antonov, Researcher of the Laboratory of Age Pathology of the Cardiovascular System of the Department of Clinical Gerontology and Geriatrics, St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, E-mail: ibg@gerontology.ru.

Статья поступила в редакцию 9 сентября 2018 г.
Receipt date 2018 September 9.

Статья принята к публикации 11 декабря 2018 г.
Accepted for publication 2018 December 11.



УДК: 612.67

DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-10

В.И. Паникар¹,
Э.А. Щербань^{2,3},
И.А. Павлова³

Комплексная гериатрическая оценка остеоартроза коленных суставов в старческом возрасте

¹ Областное государственное казенное учреждение здравоохранения
«Госпиталь для ветеранов войн»,
ул. Садовая, д. 1, г. Белгород, 308014, Российская Федерация

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
(НИУ «БелГУ»),

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

³ Областное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Белгородская
областная клиническая больница Святителя Иоасафа»,
ул. Некрасова, д. 8/9, г. Белгород, 308007, Российская Федерация
Автор для переписки: В.И. Паникар (vero4ka2011@mail.ru)

Аннотация

Актуальность: Заболевания опорно-двигательного аппарата составляют большую проблему среди пациентов старших возрастных групп, так как способны приводить к инвалидности, зависимости в повседневной жизни и снижению качества жизни. Поэтому актуальным представляется проведение гериатрической оценки у пациентов с гонартрозом. **Цель исследования:** Изучить особенности течения остеоартроза коленных суставов у пациентов старческого возраста на основании комплексной гериатрической оценки. **Материалы и методы:** Нами были изучены клинические особенности остеоартроза коленных суставов у 249 пациентов старших возрастных групп, среди них 123 пациента старческого возраста и 126 пациентов пожилого возраста. Клинические особенности нами были изучены с помощью компьютерной программы для оценки гериатрического статуса. Данные обработаны статистически. **Результаты:** Нами показано, что у людей старческого возраста с остеоартрозом коленных суставов, в отличие от людей пожилого возраста, имеются более выраженные нарушения устойчивости и походки, в старческом возрасте формируется риск развития синдрома мальнутриции, снижаются когнитивные способности, более низкими показателями характеризуется моральное состояние, имеется достоверно более высокая зависимость от посторонних лиц в повседневной деятельности, снижается качество жизни. **Заключение:** Остеоартроз коленных суставов в старческом возрасте сопровождается системными возраст-обусловленными состояниями, а именно более выраженным снижением качества жизни в совокупности на 24,5%. Возраст-обусловленные состояния у людей в возрасте старше 75 лет могут быть выявлены посредством применения комплексной гериатрической оценки, что позволяет своевременно выявить ряд отклонений и назначить комплекс лечебно-профилактических мероприятий. **Ключевые слова:** гонартроз; старческий возраст; специализированный гериатрический осмотр

Информация для цитирования: Паникар В.И., Щербань Э.А., Павлова И.А. Комплексная гериатрическая оценка остеоартроза коленных суставов в старче-

ском возрасте // Научные результаты биомедицинских исследований. 2019. Т. 5, № 1. С. 1232-140 [Panikar VI, Shcherban EA, Pavlova IA. Complex geriatric assessment of osteoarthritis of knee joints in the senior age. Research Results in Biomedicine. 2019;5(1):131-139 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-10

Vera I. Panikar¹,
Elvira A. Shcherban^{2,3},
Irina A. Pavlova³

Complex geriatric assessment of osteoarthritis of knee joints in the senior age

¹ Hospital for War Veterans,

1 Sadovaya St., Belgorod, 308014, Russia

² Belgorod State National Research University,

85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

³ Belgorod Regional Clinical Hospital of St. Joasaph,

8/9 Nekrasova St., Belgorod, 308007, Russia

Corresponding author: Vera I. Panikar (vero4ka2011@mail.ru)

Abstract

Background: The diseases of the musculoskeletal system are a serious problem among patients of older age groups, as they can lead to disability, dependence in everyday life and reduce the quality of life. Therefore, it is important to conduct geriatric evaluation in patients with gonarthrosis. **The aim of the study:** To study the peculiarities of the course of osteoarthritis of knee joints in patients of senile age on the basis of complex geriatric evaluation. **Materials and methods:** We have studied clinical features of osteoarthritis of the knee joints in 249 patients of older age groups, including 123 patients of senior age and 126 elderly patients. Clinical features were studied with the help of a computer program to assess the geriatric status. The data was processed statistically. **Results:** We have shown that in people of senior age with osteoarthritis of the knee joints, in contrast to the elderly, there are more pronounced violations of stability and gait. In senior age, the risk of developing a syndrome of malnutrition is formed, cognitive abilities are reduced, lower indicators are characterized by a moral state, there is a significantly higher dependence on other people in daily activities, the quality of life is reduced. **Conclusion:** Osteoarthritis of knee joints in senior age is accompanied by systemic age-caused conditions, namely a more pronounced decrease in the quality of life as a whole by 24.5%. Age-related conditions in people over 75 can be identified through the use of a comprehensive geriatric assessment, which allows to timely identify a number of deviations and prescribe a set of therapeutic and preventive measures.

Keywords: gonarthrosis; senior age; specialized geriatric examination

Введение. Важнейшей задачей современной гериатрии является сохранение активной жизнедеятельности человека на протяжении максимально более продолжительного периода жизни [1, 2, 3]. Известно, что в старческом возрасте, вне зависимости от имеющейся патологии, формируется ряд возрастных изменений органов и систем, которые располагают к развитию так называемых гериатрических синдромов, накопление и усугубление которых приводит к

старческой астении, в значительной степени снижающей качество жизни человека, требующей огромных усилий со стороны родственников, социальных служб для осуществления адекватного ухода. Во многом задачей оказания медико-социальной помощи человеку старческого возраста является предупреждение развития гериатрических синдромов и старческой астении. Для этого необходимо проведение адекватных возрасту комплекса диагностических, лечебных и

реабилитационных мероприятий, направленных на своевременное выявление и грамотную курацию заболеваний, накладывающихся на возрастные изменения органов и систем [4, 5].

С этих позиций весьма высокой социальной значимостью обладает патология опорно-двигательного аппарата, так как она чрезвычайно распространена, протекает с большим количеством жалоб и в значительной степени способна снизить качество жизни [6].

К одному из наиболее часто встречающихся заболеваний опорно-двигательного аппарата в старческом возрасте относятся остеоартроз коленных суставов. Эта патология характеризуется не только выраженными местными проявлениями, такими как болевой синдром, ограничения объема движений суставов, но и социальными последствиями: снижение объема передвижений, склонность к синдрому падений, возрастание степени социальной изоляции человека старческого возраста [7, 8, 9].

Специализированный гериатрический осмотр (СГО) – совокупность диагностических мероприятий, которые направлены не столько на осуществление традиционной нозологической диагностики и выявление имеющихся у пациента заболеваний, но на изучение социального статуса и риска снижения качества жизни и социальной деятельности с точки зрения соматического состояния, которые имеются у человека пожилого и старческого возраста. Основной целью СГО является выявление гериатрических синдромов, которые определяют развитие синдрома старческой астении [2, 10, 11].

Синдром старческой астении (ССА) – крайнее проявление возрастных изменений, которые приводят к накоплению инвалютивных изменений и постепенному падению параметров функционирования организма. ССА включает: снижение скорости передвижения, значительное снижение физической активности, потеря веса вследствие саркопении, снижение силы кисти, выраженная слабость, повышенная утомляемость [6, 12, 13]. ССА является ключевым понятием современной гериатрии, цель которой –

предупредить ее раннее развитие, снизить степень выраженности проявлений, а при развитии астении – подключить все возможные меры медицинского и социального плана для максимально возможной социализации пациента [1, 12, 14, 15].

В этой связи важным и актуальным является изучение особенностей течения остеоартроза коленных суставов у пациентов старческого возраста, которые дадут возможность оптимизировать оказание им помощи и повысить качество жизни [16, 17].

Цель работы: изучить особенности течения остеоартроза коленных суставов у пациентов старческого возраста на основании комплексной гериатрической оценки.

Материалы и методы исследования. Клинические особенности остеоартроза коленных суставов были изучены у 249 пациентов старших возрастных групп, среди них 123 пациента старческого возраста (средний возраст составлял $79,3 \pm 1,1$ лет) и 126 пациентов пожилого возраста (средний возраст составлял $63,4 \pm 1,2$ года). Критерии включения в исследование: наличие гонартроза второй – третьей рентгенологической стадии, второго – третьего функционального класса; первичный ОА; доброкачественное возрастное снижение памяти без выраженных когнитивных нарушений, которые затрудняли контакт с пациентами; хроническая патология умеренной выраженности в стадии компенсации. Диагноз был выставлен в соответствии с клиническими рекомендациями по диагностике и лечению остеоартроза Общероссийской общественной организации «Ассоциация ревматологов России» от 2013 года (<http://mzur.ru/upload/%D0%9E%D1%81%D1%82%D0%B5%D0%BE%D0%B0%D1%80%D1%82%D1%80%D0%B8%D1%82.pdf>).

В плане изучения особенностей течения остеоартроза коленных суставов в старческом возрасте нами была применена комплексная гериатрическая оценка (CGA, complex geriatrics assessment) [18, 19], что дало возможность выявить ряд возраст-зависимых особенностей течения данной патологии. В плане комплексной гериатрической оценки нами были изучены следующие позиции: оценка общей устойчивости и

походки; оценка риска развития синдрома мальнутриции (недостаточности питания) [19, 20]; оценка когнитивных способностей; оценка депрессии; оценка степени независимости в повседневной жизни; изучение морального состояния человека пожилого и старческого возраста; изучение качества жизни [10, 21].

Для статистической обработки результатов исследования использован метод оценки значимости различий двух совокупностей путем применения критерия t-Стьюдента. Разность показателей является достоверной при $t^3 2$, в этом случае $p < 0,05$. Критерий t Стьюдента использован для выявления достоверных различий между количественными характеристиками исследуемых процессов.

При проведении статистической обработки данных, они были внесены в электронные таблицы «Excel», математико-статистическая обработка выполнена с использованием программы «Statgraphics plus for Windows», версия 11,0.

Результаты и обсуждение.

Оценка общей устойчивости и походки. Параметры устойчивости и походки достоверно снижались с возрастом по каждым исследуемым пунктам, что соответствует общегериатрическим закономерностям. Также при интерпретации полученных данных становится понятным, что при остеоартрозе коленных суставов в старческом возрасте имеют место достоверно более выраженные изменения устойчивости и походки по сравнению с людьми пожилого возраста, что требует применения специальных диагностических и лечебных подходов.

Оценка риска развития синдрома мальнутриции. При суммарной оценке результатов двух частей опросника нами было показано, что у людей пожилого возраста нутритивный статус характеризовался нормальным значением совокупного балла – $23,8 \pm 0,2$, в то время как в старческом возрасте имел место риск развития синдрома мальнутриции (совокупный балл был $17,3 \pm 0,3$, $p < 0,05$ между показателями групп пожилого и старческого возраста), который способен внести дополнительный вклад в

усиление симптоматики остеоартроза коленных суставов.

Оценка когнитивных способностей.

При определении суммарного бала выявлено, что в старческом возрасте он был достоверно ($p < 0,05$) меньшим по сравнению с пожилым, соответственно, $21,6 \pm 0,1$ балла и $26,4 \pm 0,2$ балла, что свидетельствует о достоверно большей степени когнитивного дефицита у людей старческого возраста с остеоартрозом коленных суставов.

Оценка депрессии. При оценке депрессии нами были выявлены следующие характеристики состояния пациентов пожилого и старческого возраста по основным проявлениям (в баллах): настроение – $1,1 \pm 0,1$ и $0,5 \pm 0,2$; пессимизм – $1,2 \pm 0,2$ и $0,3 \pm 0,1$; чувство несостоятельности – $1,0 \pm 0,3$ и $0,4 \pm 0,2$; неудовлетворенность – $1,1 \pm 0,2$ и $0,5 \pm 0,1$; чувство вины – $1,0 \pm 0,1$ и $0,2 \pm 0,1$; наличие ощущение, будто наказан – $1,8 \pm 0,1$ и $1,3 \pm 0,1$; отвращение к самому себе – $1,7 \pm 0,2$ и $1,3 \pm 0,2$; идеи самообвинения – $1,9 \pm 0,1$ и $1,4 \pm 0,1$; суицидальные мысли – $1,0 \pm 0,2$ и $0,5 \pm 0,1$; слезливость – $1,9 \pm 0,1$ и $1,6 \pm 0,2$; раздражительность – $1,1 \pm 0,2$ и $0,5 \pm 0,1$; нарушение социальных связей – $1,8 \pm 0,3$ и $1,4 \pm 0,2$; нерешительность – $1,9 \pm 0,2$ и $1,3 \pm 0,1$; образ тела – $1,8 \pm 0,1$ и $1,4 \pm 0,2$; утрата работоспособности – $1,9 \pm 0,2$ и $1,4 \pm 0,1$; нарушение сна – $1,0 \pm 0,1$ и $0,2 \pm 0,1$; утомляемость – $1,1 \pm 0,2$ и $0,4 \pm 0,1$; утрата аппетита – $1,1 \pm 0,3$ и $0,5 \pm 0,2$; потеря веса – $1,0 \pm 0,2$ и $0,3 \pm 0,1$; охваченность телесными ощущениями – $1,9 \pm 0,1$ и $1,4 \pm 0,2$; утрата либидо – $1,0 \pm 0,1$ и $0,5 \pm 0,1$, $p < 0,05$ между показателями групп пожилого и старческого возраста. При анализе полученных результатов обращает на себя внимание, что выраженность депрессивных переживаний была достоверно большей у людей пожилого возраста, нежели в старческом возрасте. Так, суммарный показатель у пожилых людей был $29,3 \pm 0,3$ балла (умеренная депрессия), а в старческом возрасте – $17,3 \pm 0,2$ балла (легкая депрессия), $p < 0,05$ между показателями групп пожилого и старческого возраста. Полученные данные свидетельствуют о необходимости привлечения специалистов-психотерапевтов к комплексному ве-

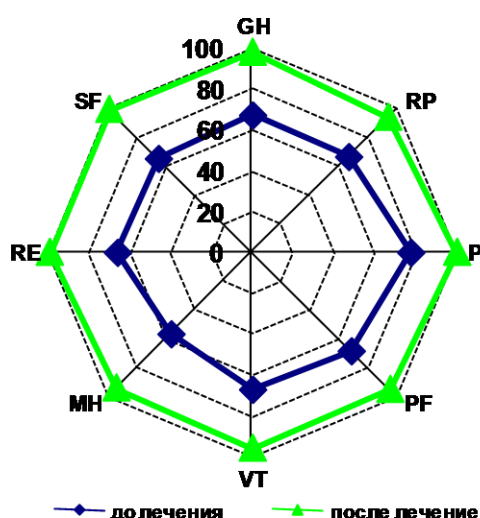
дению людей пожилого и старческого возраста с остеоартрозом коленных суставов.

Оценка независимости в повседневной жизни. Контроль дефекации в группе людей пожилого возраста был 9,3±0,2 балла, в группе людей старческого возраста – 7,4±0,2 балла; контроль мочеиспускания в пожилом возрасте составлял 9,5±0,1 балл, в старческом возрасте – 7,5±0,1 балла; возможность самостоятельно осуществлять личную гигиену в пожилом возрасте соответствовал 9,7±0,2 баллам, в старческом возрасте – 8,3±0,1 баллам; возможность самостоятельно пользоваться туалетом в пожилом возрасте была оценена в 9,1±0,1 балла, в старческом возрасте в 8,4±0,2 балла; самостоятельный прием пищи в пожилом возрасте соответствовал 9,8±0,3 баллам, в старческом возрасте – 8,2±0,2 баллам; возможность самостоятельно перемещаться в пределах кровати, кровати – стула – в пожилом возрасте – 9,7±0,2 балла, в старческом возрасте – 7,5±0,1 балл; мобильность – в пожилом возрасте – 9,8±0,2 балла, в старческом возрасте – 7,1±0,2 балла; самостоятельное одевание – в пожилом возрасте – 9,9±0,2 балла, в старческом возрасте – 8,8±0,2 балла; самостоятельный подъем по лестнице – в пожилом возрасте – 7,5±0,2 балла, в старческом возрасте – 5,0±0,1 балла; самостоятельный прием ванны – в пожилом возрасте – 8,5±0,1 балла, в старческом возрасте – 8,1±0,2 балла; общее количество баллов в группе людей пожилого возраста составляло 92,8±0,2 (легкая зависимость от посторонней помощи, в группе лиц старческого возраста – 76,3±0,2 (умеренная зависимость от посторонней помо-

щи, $p<0,05$ между показателями групп пожилого и старческого возраста. Полученные данные, таким образом, свидетельствуют о том, что у людей старческого возраста имеются определенные проблемы с самообслуживанием, которые требуют присутствия других лиц для осуществления ими нормальной жизнедеятельности.

Оценка морального состояния. В целом моральное состояние людей старческого возраста, которое отражает не депрессию, а общие подходы человека к жизни, характеризуется достоверно более низкими показателями по сравнению с лицами пожилого возраста – 44,1±0,2 и 40,9±0,1 балл, $p<0,05$ между показателями групп пожилого и старческого возраста.

Оценка качества жизни. При изучении качества жизни нами выявлено, что в старческом возрасте оно отличалось достоверно более низкими показателями по сравнению с лицами пожилого возраста. Так, соответственно в пожилом и старческом возрасте, результаты параметров опросника SF-36 имели следующий характер: общее здоровье – 25,8±2,2 и 17,5±1,5 балла; ролевое функционирование – 32,3±2,4 и 27,1±1,7 балла; боль – 14,5±1,4 и 19,1±1,2 балла; физическое функционирование – 31,5±2,1 и 24,7±1,9 балла; жизнеспособность – 32,1±1,7 и 25,4±1,8 балла; психологическое здоровье – 26,5±1,5 и 18,4±1,8 балла; ролевое эмоциональное функционирование – 35,2±1,7 и 28,4±1,5 балла; социальное функционирование – 36,5±1,8 и 29,4±1,7 балла, $p<0,05$ между показателями групп пожилого и старческого возраста (рисунок).



* $p < 0,05$ между показателями групп пожилого и старческого возраста

* $p < 0.05$ between the indicators of elderly and senior people groups

Рис. Качество жизни у людей пожилого и старческого возраста ($M \pm m$, баллы).

Fig. Quality of life in elderly and senior people ($M \pm m$, points).

Таким образом, использование методов и приемов комплексной гериатрической оценки позволило выявить, что, несмотря на сопоставимость патологических изменений в коленных суставах, их однородность общее состояние пациентов старческого возраста характеризуется специфичностью.

В частности, нами показано, что у людей старческого возраста с остеоартрозом коленных суставов, в отличие от людей пожилого возраста, имеются более выраженные нарушения устойчивости и походки, в старческом возрасте формируется риск развития синдрома мальнутриции, снижаются когнитивные способности, более низкими показателями характеризуется моральное состояние, имеется достоверно более высокая зависимость от посторонних лиц в повседневной деятельности, снижается качество жизни. Это диктует необходимость особого, комплексного, социально-ориентированного подхода к лечению людей старческого возраста с остеоартрозом коленных суставов.

Выводы

1. Остеоартроз коленных суставов в старческом возрасте сопровождается системными возраст-обусловленными состояниями, а именно нарушениями походки и устойчивости, риском развития синдрома мальнутриции, сниженными когнитивными

способностями, моральным состоянием; формированием выраженной зависимости от посторонней помощи; более выраженным снижением качества жизни в совокупности на 24,5%.

2. Возраст-обусловленные состояния у людей в возрасте старше 75 лет могут быть выявлены посредством применения комплексной гериатрической оценки, что позволяет своевременно выявить ряд отклонений и назначить комплекс лечебно-профилактических мероприятий.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Голубева Е.Ю., Данилова Р.И. Характеристика темпов старения у лиц пожилого возраста на Европейском Севере России // Успехи геронтологии. 2012. Т. 25, N 1. С. 45-48.
2. Меньшикова Л.В. Исходы переломов бедренной кости и их медико-социальные последствия // Клиническая медицина. 2002. N 6. С. 39-41.
3. Frailty in Older Adults: Evidence for a Phenotype / L.P. Fried [et al.] // J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 2010. Vol. 56(3). P. 146-157. DOI: <https://doi.org/10.1093/gerona/56.3.M146>
4. Шабалин В.Н. Руководство по геронтологии / под ред. В.Н.Шабалина. М.: «Цитадель-Трейд», 2005. 796 с.

5. Increased symptoms of stiffness 1 year after total knee arthroplasty are associated with a worse functional outcome and lower rate of patient satisfaction / N.D. Clement [et al.] // *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2018. N 5. P. 77-81. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00167-018-4979-2>
6. Основные клинические синдромы в гериатрической практике / С.Г. Горелик [и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия Медицина. Фармация. 2011. N 16/1. С. 102-106.
7. Синдром возрастной стопы в эстетической медицине / К. Прощаев [и др.] // *Эстетическая медицина.* 2014. N 1. С. 61-65.
8. Heuberger R.A. The frailty syndrome: a comprehensive review // *J. Nutr. Gerontol. Geriatr.* 2011. Vol. 30(4). P. 315-368. DOI: <https://doi.org/10.1080/21551197.2011.623931>
9. Rejeski W.J., Brawley L.R. Functional health: innovations in research on physical activity with older adults // *Med. Sci. Sports Exerc.* 2006. Vol. 38(1). P. 93-99. DOI: [DOI: 10.1249/01.mss.0000183191.65316.0a](https://doi.org/10.1249/01.mss.0000183191.65316.0a)
10. Ильницкий А.Н., Прощаев К.И. Специализированный гериатрический осмотр // *Геронтологический журнал им. В.Ф. Купревича.* 2012. N 4. С. 66-84.
11. Factors influencing cane use for the management of knee osteoarthritis: a cross sectional survey / J. Hart [et al.] // *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2017. N 5. P. 176-189. DOI: <https://doi.org/10.1002/acr.23494>
12. Синдром старческой астении (FRAILTY): клиника, диагностика, лечение, профилактика / А.Н. Ильницкий [и др.] // *Врач.* 2014. N 6. С.13-16.
13. Pneumonia in long-term care: a prospective case-control study of risk factors and impact on survival / E.N. Vergis [et al.] // *Arch. Intern. Med.* 2001. Vol. 161(19). P. 2378-2381. DOI: [DOI: 10.1001/archinte.161.19.2378](https://doi.org/10.1001/archinte.161.19.2378)
14. Promoting access to innovation for frail old persons / G. Berrut [et al.] // *The Journal of Nutrition, Health & Aging.* 2013. Vol. 17(8). P. 688-693. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12603-013-0039-2>
15. The Efficacy of Electronic Health-Supported Home Exercise Interventions for Patients With Osteoarthritis of the Knee: Systematic Review / A.G.M. Schäfer [et al.] // *J Med Internet Res.* 2018. Vol. 20(4). P. 152-159. DOI: [DOI: 10.2196/jmir.9465](https://doi.org/10.2196/jmir.9465)
16. Ильницкий А.Н., Прощаев К.И. Старческая астения (frailty) как концепция современной геронтологии // *Геронтология.* 2013. N 1. С. 15-16.
17. Benefits and safety of dietary protein for bone health an expert consensus paper endorsed by the European Society for Clinical and Economical Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis, and Musculoskeletal Diseases and by the International Osteoporosis Foundation / R. Rizzoli [et al.] // *Osteoporos Int.* 2018. N 8. P. 213-219.
18. Информационное обеспечение телемедицинских технологий и опыт их реализации на региональном уровне [Электронный ресурс] / В.М. Леванов [и др.] // *Современные проблемы науки и образования.* 2012. N 6. URL: <http://www.science-education.ru/106> — 7910 (дата обращения: 25.02.2018).
19. Current nutritional recommendations and novel dietary strategies to manage sarcopenia / R. Calvani [et al.] // *The Journal of Frailty and Aging.* 2013. Vol. 2(1). P. 38-53.
20. Nutrimenty: BMI assessment as a function of development / J.E. Selem-Solis [et al.] // *Endocrinol Diabetes Nutr.* 2018. Vol. 65(2). P. 84-91. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.endien.2018.03.004>
21. Screening for Undernutrition in Geriatric Practice: Developing the Short-Form Mini-Nutritional Assessment (MNA-SF) / L. Rubenstein [et al.] // *Journals of Gerontology. Series A: Biological Sciences and Medical Sciences.* 2001. Vol. 56(6). P. 366-372. DOI: <https://doi.org/10.1093/gerona/56.6.M366>

Reference

1. Golubeva EYu, Danilova RI. [The characteristics of aging rate among elderly people on the European North of Russia]. *Uspehi gerontologii.* 2012;25(1):45-48. Russian.
2. Menshikova LV. [Outcomes of fractures of the femur and their medical and social consequences]. *Klinicheskaya meditsina.* 2002;6:39-41. Russian.
3. Fried LP, Tangen CM, Walston J, et al. Frailty in Older Adults: Evidence for a Phenotype. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 2010;56(3):146-157. DOI: <https://doi.org/10.1093/gerona/56.3.M146>
4. Shabalin VN. [Gerontology Manual]. Moscow: «Citadel-Trejd»; 2005. 796 p. Russian.
5. Clement ND, Bardgett M, Weir D, et al. Increased symptoms of stiffness 1 year after total knee arthroplasty are associated with a worse functional outcome and lower rate of patient satisfaction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.*

2018;5:77-81. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00167-018-4979-2>

6. Gorelik SG, Ilnitskiy AN, Zhuravleva YaV, et al. [Main clinical syndromes in geriatric practice]. Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya Meditsina. Farmatsiya. 2011;16/1:102-106. Russian.

7. Proschaev K, Ilnitskiy A, Gorelik S, et al. [Age-related foot syndrome in aesthetic medicine]. Esteticheskaya meditsina. 2014;1:61-65. Russian.

8. Heuberger RA. The frailty syndrome: a comprehensive review. J. Nutr. Gerontol. Geriatr. 2011;30(4):315-368. DOI: <https://doi.org/10.1080/21551197.2011.623931>

9. Rejeski WJ, Brawley LR. Functional health: innovations in research on physical activity with older adults. Med. Sci. Sports Exerc. 2006;38(1):93-99. DOI: [10.1249/01.mss.0000183191.65316.0a](https://doi.org/10.1249/01.mss.0000183191.65316.0a)

10. Ilnitskiy AN, Proschaev KI. [Specialized geriatric examination]. Gerontologicheskii zhurnal im. V.F.Kuprevicha. 2012;4:66-84. Russian.

11. Hart J, Hinman RS, Van Ginckel A, et al. Factors influencing cane use for the management of knee osteoarthritis: a cross sectional survey. Arthritis Care Res (Hoboken). 2017;5:176-189. DOI: <https://doi.org/10.1002/acr.23494>

12. Ilnitskiy AN, Proschaev KI, Varavina LE., et al. [Syndrome of senile asthenia (FRAILTS): clinic, diagnosis, treatment, prevention]. Vrach. 2014;6:13-16. Russian.

13. Vergis EN, Brennen C, Wagener M, et al. Pneumonia in long-term care: a prospective case-control study of risk factors and impact on survival. Arch. Intern. Med. 2001;161(19):2378-2381. DOI: [10.1001/archinte.161.19.2378](https://doi.org/10.1001/archinte.161.19.2378)

14. Berrut G, Andrieu S, Bergma H, et al. Promoting access to innovation for frail old persons. The Journal of Nutrition, Health & Aging. 2013;17(8):688-693. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12603-013-0039-2>

15. Schäfer AGM, Zalpour C, von Piekartz H, et al. The Efficacy of Electronic Health-Supported Home Exercise Interventions for Patients With Osteoarthritis of the Knee: Systematic Review. J Med Internet Res. 2018;20(4):152-159. DOI: [10.2196/jmir.9465](https://doi.org/10.2196/jmir.9465)

16. Ilnitskiy AN, Proschaev KI. [Senile asthenia (frailty) as a concept of modern gerontology]. Gerontologiya. 2013;1:15-16. Russian.

17. Rizzoli R, Biver E, Bonjour JP, et al. Benefits and safety of dietary protein for bone

health-an expert consensus paper endorsed by the European Society for Clinical and Economical Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis, and Musculoskeletal Diseases and by the International Osteoporosis Foundation. Osteoporos Int. 2018;8:213-219.

18. Levanov VM, Ilnitskiy AN, Proschaev KI, et al. [Information support of telemedicine technologies and experience of their implementation at the regional level]. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya [Internet]. 2012 [Accessed 25 February 2018];6. Available from: <http://www.science-education.ru/106> – 7910. Russian.

19. Calvani R, Miccheli A, Landi F, et al. Current nutritional recommendations and novel dietary strategies to manage sarcopenia. The Journal of Frailty and Aging. 2013;2(1):38-53.

20. Selem-Solís JE, Alcocer-Gamboa A, Hattori-Hara M, et al. Nutrimetry: BMI assessment as a function of development. Endocrinol Diabetes Nutr. 2018;65(2):84-91. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.endien.2018.03.004>

21. Rubenstein L, Harker J, Salvà A, et al. Screening for Undernutrition in Geriatric Practice: Developing the Short-Form Mini-Nutritional Assessment (MNA-SF). Journals of Gerontology. Series A: Biological Sciences and Medical Sciences. 2001;56(6):366-372. DOI: <https://doi.org/10.1093/gerona/56.6.M366>

Информация об авторах

Вера Игоревна Паникар, врач-гериатр, главный внештатный гериатр департамента здравоохранения и социальной защиты населения Белгородской области, Областное государственное казенное учреждение здравоохранения «Госпиталь для ветеранов войн», E-mail: vero4ka2011@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9198-5268.

Эльвира Анатольевна Щербань, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры семейной медицины, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»), ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», ORCID: 0000-0003-2822-8819.

Ирина Анатольевна Павлова, врач-клинический фармаколог, ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа».

Information about the authors

Vera I. Panikar, doctor-geriatrician, chief free-lance geriatrician of the Department of health and social protection of the population of the Belgorod region, Hospital for War Veterans, E-mail: vero4ka2011@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9198-5268.

Elvira A. Shcherban, Doctor of Medical Sciences, Assistant Professor, Professor of the Department of Family Medicine, Belgorod State National Research University, Belgorod Regional Clinical Hos-

pital of St. Joasaph, ORCID: 0000-0003-2822-8819.

Irina A. Pavlova, physician-clinical pharmacologist, Belgorod Regional Clinical Hospital of St. Joasaph.

Статья поступила в редакцию 20 августа 2018 г.
Receipt date 2018 August 20.

Статья принята к публикации 29 ноября 2018 г.
Accepted for publication 2018 November 29.