ISSN 2410- 5155 (Online), ISSN 2311- 4495 (Print)

Трансляционная Медицина

Translational Medicine

Научно-практический рецензируемый медицинский журнал

том 4 №1 / 2017

Фундаментальная медицина
Сердечно-сосудистые заболевания
Эндокринология
Нейронауки
Педиатрия и детская хирургия
Неонатология
Лучевая диагностика
Акушерство и гинекология
Онкология
Гематология

Главный редактор
Академик РАН
Е.В. Шляхто

ISSN 2410-5155 (Online), ISSN 2311-4495 (Print)

Трансляционная Медицина

Translational Medicine

Научно-практический рецензируемый медицинский журнал

том 4 №1 / 2017

Фундаментальная медицина
Сердечно-сосудистые заболевания
Эндокринология
Нейронауки
Педиатрия и детская хирургия
Неонатология
Лучевая диагностика
Акушерство и гинекология
Онкология
Гематология

Главный редактор
Академик РАН
Е.В. Шляхто

ISSN 2311–4495 (печатная версия)
ISSN 2410–5155 (электронная версия)

Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова Министерства здравоохранения Российской Федерации

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР
Е. В. Шляхто

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА
А. О. Конради
М. М. Галагудза

ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕДАКТОР
Н. А. Смолина

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ

С. В. Анисимов (Санкт-Петебург)
Е. И. Баранова (Санкт-Петербург)
Е. Р. Баранцевич (Санкт-Петербург)
Т. В. Вавилова (Санкт-Петербург)
А. В. Васильев (Москва)
М. Л. Гордеев (Санкт-Петербург)
Е. Н. Гринёва (Санкт-Петербург)
А. А. Жлоба (Санкт-Петербург)
А. Ю. Зарицкий (Санкт-Петербург)
Э. Э. Звартау (Санкт-Петербург)
Д. О. Иванов (Санкт-Петербург)
М. А. Карпенко (Санкт-Петербург)
Э. В. Комличенко (Санкт-Петербург)
А. А. Костарева (Санкт-Петербург)
Д. С. Лебедев (Санкт-Петербург)
Ю. Б. Лишманов (Томск)
О. М. Моисеева (Санкт-Петербург)
А. О. Недошивин (Санкт-Петербург)
И. Л. Никитина (Санкт-Петербург)
Е. В. Пармон (Санкт-Петербург)
Д. В. Рыжкова (Санкт-Петербург)

Журнал зарегистрирован в Государственном комитете РФ по печати.
Свидетельство о рег. ПИ № ФС77–56793 от 29.01.2014 г.
Журнал включен в Российский индекс научного цитирования

Периодичность — 6 выпусков в год
Тираж — 1100 экземпляров

Тематическая рассылка по специалистам.

Корректор — Л. А. Исаенкова
Верстка — Л. П. Попова

18+

Издательство «ФОНД АЛМАЗОВА»
Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2
Телефон издательства: +7(812)702–37–16

Подача рукописей и переписка с авторами, размещение рекламы и подписка —
e-mail: bulleten@almazovcentre.ru

Подписка по каталогу агентства «Роспечать»: подписной индекс 57996

Архив номеров: http://www.almazovcentre.ru/?page_id=20396
http://elibrary.ru/title_about.asp?id=50986

Все права защищены. © 2016.
Полное или частичное воспроизведение материалов, опубликованных в журнале, допускается только с письменного разрешения редакции.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов

ЧЛЕНЫ МЕЖДУНАРОДНОГО РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА

Ж. Бакс (Нидерланды)
Р. Феррари (Италия)
Р. Хельманн (Германия)
Г. Ханссон (Швеция)
Д. Керр (США)
Ж. Массард (Франция)
Б. Ольшанский (США)
М. Орлов (США)
Т. Сейерсен (Швеция)
Г. Сёберг (Швеция)
О. Содер (Швеция)
Т. Сили-Торок (Нидерланды)
Я. Вааге (Норвегия)
Э. К. Айламазян (Санкт-Петербург)
В. Н. Анисимов (Санкт-Петербург)
В. Г. Баиров (Санкт-Петербург)
В. С. Баранов (Санкт-Петербург)
О. А. Беркович (Санкт-Петербург)
Л. А. Бокерия (Москва)
В. Н. Васильев (Санкт-Петербург)
Т. Д. Власов (Санкт-Петербург)
А. Я. Гудкова (Санкт-Петербург)
Е. З. Голухова (Москва)
И. В. Гурьева (Москва)
А. С. Галявич (Казань)
С. Л. Дземешкевич (Москва)
Д. В. Дупляков (Самара)
И. Е. Зазерская (Санкт-Петербург)
Е. В. Заклязьминская (Москва)
А. М. Караськов (Новосибирск)
Р. С. Карпов (Томск)
В. М. Кутузов (Санкт-Петербург)
В. В. Ломиворотов (Новосибирск)
Ю. М. Лопатин (Волгоград)
В. А. Мазурок (Санкт-Петербург)
А. С. Максимов (Санкт-Петербург)
Л. Н. Маслов (Томск)
А. Л. Маслянский (Санкт-Петербург)
Г. А. Мельниченко (Москва)
В. М. Моисеенко (Санкт-Петербург)
И. А. Наркевич (Санкт-Петербург)
И. В. Поддубный (Москва)
Е. А. Покушалов (Новосибирск)
В. П. Пузырёв (Томск)
В. А. Ткачук (Москва)
С. В. Сидоркевич (Санкт-Петербург)
Г. Н. Салогуб (Санкт-Петербург)
В. В. Фадеев (Москва)
В. А. Цырлин (Санкт-Петербург)

ISSN 2311-4495 (printed)
ISSN 2410-5155 (online)

V. A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre Ministry of Health of the Russian Federation

EDITOR-IN-CHIEF
E. Shlyakhto

VICE -EDITORS
A. Konradi
M. Galagudza

TECHNICAL EDITOR
N. Smolina

EDITORIAL BOARD

S. Anisimov (Saint-Petersburg)
E. Baranova (Saint-Petersburg)
E. Barancevich (Saint-Petersburg)
T. Vavilova (Saint-Petersburg)
A.Vasiliev (Moscow)
M. Gordeev (Saint-Petersburg)
E. Grineva (Saint-Petersburg)
A. Zhloba (Saint-Petersburg)
A. Zaritskiy (Saint-Petersburg)
E. Zvartau (Saint-Petersburg)
D. Ivanov (Saint-Petersburg)
M. Karpenko (Saint-Petersburg)
E. Komlichenko (Saint-Petersburg)
A. Kostareva (Saint-Petersburg)
D. Lebedev (Saint-Petersburg)
Yu. Lishmanov (Tomsk)
O. Moiseeva (St. Petersburg)
A. Nedoshivin (Saint-Petersburg)
I. Nikitina (Saint-Petersburg)
E. Parmon (Saint-Petersburg)
D. Ryzhkova (Saint-Petersburg)

MEM BERS OF THE INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

J. Bax (Netherlands)
R. Ferrari (Italy)
R. Hehlmann (Germany)
G. Hansson (Sweden)
K. David (USA)
G. Massard (France)
B. Olshansky (USA)
M. Orlov (USA)
T. Sejersen (Sweden)
G. Sjöberg (Sweden)
O. Söder (Sweden)
T. Szili-Torok (Netherlands)
J. Vaage (Norway)
E. Aylamazyan (Saint-Petersburg)
V. Anisimov (Saint-Petersburg)
V. Bairov (Saint-Petersburg)
V. Baranov (Saint-Petersburg)
O. Berkovich (Saint-Petersburg)
L. Bokeria (Moscow)
V. Vasiliev (Saint-Petersburg)
T. Vlasov (Saint-Petersburg)
A. Gudkova (Saint-Petersburg)
E. Golukhova (Moscow)
I. Gurieva (Moscow)
A. Galyavich (Kazan)
S. Dzemeshkevich (Moscow)
D. Duplyakov (Samara)
I. Zazerskaya (Saint-Petersburg)
E. Zaklyazminskaya (Moscow)
A. Karaskov (Novosibirsk)
R. Karpov (Tomsk)
V. Kutuzov (Saint-Petersburg)
V. Lomivorotov (Novosibirsk)
Yu. Lopatin (Volgograd)
V. Mazurok (Saint-Petersburg)
A. Maksimov (Saint-Petersburg)
L. Maslov (Tomsk)
A. Maslyanskiy (Saint-Petersburg)
G. Melnichenko (Moscow)
V. Moiseenko (Saint-Petersburg)
I. Narkevich (Saint-Petersburg)
I. Poddubniy (Moscow)
E. Pokushalov (Novosibirsk)
V. Puzyrev (Tomsk)
V. Tkachuk (Moscow)
S. Sidorkevich (Saint-Petersburg)
G. Sologub (Saint-Petersburg)
V. Fadeev (Moscow)
V. Tsyrlin (Saint-Petersburg)

Journal is registered in State Committee for Publishing of the Russian Federation.
Certificate of registration. ПИ № ФС77-56793 on 29.01.2014
The Journal is included in the Russian Citation Index

Periodicity — 6 issues per year
Edition 1100 copies

Distribution to specialists.

Proofreader — L. A. Isaenkova
Make-up — L. P. Popova

18+

Publisher «ALMAZOV FOUNDATION »
Address: 197341, Saint-Petersburg, Akkuratova str. 2
Tel.: +7(812)702–37–16

Manuscript submission and correspondence with authors,
advertising and subscribtion —
e-mail: bulleten@almazovcentre.ru

Subscription on catalogue of Rospechat agency: index 57996

Archive: http://www.almazovcentre.ru/?page_id=20396
http://elibrary.ru/title_about.asp?id=50986

All rights reserved. © 2016.
Full or partial reproduction of materials printed in journal is allowed by the written permission of publisher.

Editors accept no responsibility for the content of advertising materials.

СОДЕРЖАНИЕ

РЕДАКТОРСКАЯ СТАТЬЯ

6 Шляхто Е.В., Яковенко И.В.
МЕДИЦИНА, ОРИЕНТИРОВАННАЯ НА ИСХОД ЗАБОЛЕВАНИЯ

ЭНДОКРИНОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

11 Беттихер О.А., Зазерская И.Е., Попова П.В.
СРАВНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ АКУШЕРСКИХ ТАКТИК ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОК С ГЕСТАЦИОННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ НА ПРИМЕРЕ ДВУХ ЛОКАЛЬНЫХ ПРОТОКОЛОВ

НЕВРОЛОГИЯ

20 Хачатрян В.А., Николаенко М.С., Самочерных К.А., Ким А.В., Сысоев К.В., Дон О.А., Шаповалов А.С., Абрамов К.Б., Иванов В.П., Кобозев В.В.
ВЕНТРИКУЛО-СИНУСТРАНСВЕРЗОСТОМИЯ В ЛЕЧЕНИИ ДЕКОМПЕНСИРОВАННОЙ ГИДРОЦЕФАЛИИ У ДЕТЕЙ (РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОЙ АПРОБАЦИИ МЕТОДА)

ТКАНЕВЫЕ, КЛЕТОЧНЫЕ, ГЕНОМНЫЕ И ПРОТЕОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

29 Викнянщук А.Н., Мишанин А.И., Твердохлебов С.И., Головкин А.С.
ПОДХОДЫ К ТЕСТИРОВАНИЮ БИОМАТЕРИАЛОВ С ПОЗИЦИИ СОВРЕМЕННОЙ ПАРАДИГМЫ БИОСОВМЕСТИМОСТИ

41 Артемова И.А., Козлова С.Н.
КЛЕТОЧНЫЕ БИОМАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ПРОГНОЗОМ ПРИ ОСТРЫХ КОРОНАРНЫХ СОБЫТИЯХ

CONTENT

EDITORIAL

6 Shlyakhto E.V., Yakovenko I.V.
OUTCOME-BASED HEALTHCARE

METABOLIC DISEASES

11 Bettikher O.A., Zazerskaya I.E., Popova P.V.
EVALUATION OF DIFFERENT DELIVERY TACTICS IN PATIENTS WITH GESTATIONAL DIABETES ACCORDING TO THE TWO LOCAL PROTOCOLS

NEUROLOGY

20 Khachatryan W.A., Samochernyh K.A., Kim A.V., Nikolaenko M.S., Sysoev K.V., Don O.A., Shapovalov A.S., Abramov K.B., Ivanov V. P., Kobozev V.V.
VENTRICULO-SINUS TRANSVERSAL SHUNT IN THE TREATMENT OF DECOMPENSATED HYDROCEPHALUS IN CHILDREN (The results of clinical testing of the method)

CELL, TISSUE, AND GENE THERAPY

29 Viknianshchuk A.N., Mishanin A.I., Tverdokhlebov S.I., Golovkin A.S.
APPROACHES TO BIOMATERIALS TESTING ACCORDING TO MODERN BIOCOMPATIBILITY PARADIGM

41 Artemova I.A., Kozlova S.N.
CELLULAR BIOMARKERS OF ENDOTHELIAL DAMAGE ASSOCIATED WITH ADVERSE PROGNOSIS IN ACUTE CORONARY EVENTS

СОДЕРЖАНИЕ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

49 Кузьменко Н.В., Плисс М.Г., Рубанова Н.С., Цырлин В.А.
ВЛИЯНИЕ МАГНИТНОЙ БУРИ НА ПАРАМЕТРЫ ГЕМОДИНАМИКИ И ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У НОРМОТЕНЗИВНЫХ КРЫС ЛИНИИ WISTAR

55 Каплиева И.В., Франциянц Е.М., Трепитаки Л.К., Черярина Н.Д.
ПРОФИЛЬ ПОЛОВЫХ СТЕРОИДОВ НА НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПАХ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ САРКОМЫ 45 В ПЕЧЕНЬ У САМЦОВ КРЫС

63 Журавский С.Г., Юкина Г.Ю., Паневин А.А., Почкаева Е.И., Скорик Ю.А., Сонин Д.Л.
МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ОЦЕНКИ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ ХИТОЗАН-СОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ ГИСТОХИМИЧЕСКОЙ РЕАКЦИЕЙ ПО ГРОКОТТ

CONTENT

EXPERIMENTAL STUDIES

49 Kuzmenko N.V., Pliss M.G., Rubanova N.S., Tsyrlin V.A.
INFLUENCE OF MAGNETIC STORM ON THE HEMODYNAMIC PARAMETERS AND HEART RATE VARIABILITY IN NORMOTENSIVE WISTAR RATS

55 Kaplieva I.V., Frantsiyants E. M., Trepitakil K., Cheryarina N.D.
PROFILE OF SEX STEROIDS AT EARLY STAGES OF LIVER METASTASIS FROM SARCOMA 45 IN MALE RATS

63 Zhuravskii S.G., Yukina G.Yu., Panevin A.A., Pochkaeva E.I., Skorik Y.A., Sonin D.L.
EVALUATION OF CHITOSAN NANOPARTICLES BIODISTRIBUTION USING GROCOTT METHENAMINE SILVER STAINING

ISSN 2311-4495
ISSN 2410-5155 (Online)
УДК 61

МЕДИЦИНА, ОРИЕНТИРОВАННАЯ НА ИСХОД ЗАБОЛЕВАНИЯ

Шляхто Е.В., Яковенко И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России,
Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:
Яковенко Игорь Васильевич
ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Россия, 197341.
E-mail: yakovenko_iv@almazovcentre.ru

Статья поступила в редакцию 11.01.2017 и принята к печати 14.02.2017.

Резюме

В статье представлен анализ публикаций, посвященных разработке и внедрению в здравоохранение принципов медицины, ориентированной на исход заболевания, или ценностной медицины. Показаны основные этапы и проблемы, связанные с переходом на данную систему.

Ключевые слова: ориентированное на исход здравоохранение, ценностная медицина, эффективность медицинской помощи.

Для цитирования: Трансляционная медицина. 2017; 4 (1): 6–10.

OUTCOME-BASED HEALTHCARE

Shlyakhto E.V., Yakovenko I.V.

Federal Almazov North-West Medical Research Centre,
Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:
Igor V. Yakovenko
Federal Almazov North-West Medical Research Centre
Akkuratova str. 2, Saint Petersburg, Russia, 197341
E-mail: yakovenko_iv@almazovcentre.ru

Received 01 January 2017; accepted 14 February 2017.

Abstract

The article represents analysis of publications devoted to the development and implementation of Outcome-based healthcare and Value-based medicine principles in the healthcare. The basic steps and problems associated with the transition to this system are described.

Key words: Outcome based healthcare, value-based medicine, effectiveness of healthcare.

For citation: Translyatsionnaya meditsina= Translational Medicine. 2017; 4 (1): 6–10.

Результаты лечения больных определяются, прежде всего, применением эффективных медицинских технологий. Вместе с тем и организационные технологии оказывают существенное влияние на качество медицинской помощи. В последние годы в ряде стран Европы и в США интенсивно обсуждается вопрос о возможном переходе здравоохранения этих стран на принципы ценностной медицины (Value-based medicine) или медицины, ориентированной на исход заболевания (Outcome-based healthcare), или, по крайней мере, о применении в ряде регионов этих стран пилотных проектов с использованием таких принципов [1,2,3,4]. Так в чем же заключаются предлагаемые перемены?

Причины внедрения медицины, ориентированной на исход заболевания

Медицина во все времена стремилась к достижению положительных исходов заболевания. Однако принципы медицины, ориентированной на исход заболевания, предполагают применение экономических рычагов, мотивирующих отдельных медиков и медицинские организации к достижению положительных и необходимых прежде всего самому пациенту исходов. Под положительным исходом заболевания понимается «результат лечения, который наиболее важен для самого пациента, в том числе функциональное улучшение и способность жить нормальной и продуктивной жизнью» (International Consortium for Health Outcomes Measurement) (http://www.ichom.org/why-we-do-it/). Итак, первой причиной, побудившей внедрить данные принципы, является стремление организаторов здравоохранения привязать оплату за оказанную медицинскую помощь к важному (ценному) для пациента исходу. Есть и другая причина предстоящих перемен. Дело в том, что существующие в настоящее время в большинстве стран мира принципы оплаты за медицинскую помощь предполагают выплаты медицинским организациям и отдельным медикам за процесс лечения, за выполненную процедуру (операцию, обследование и т.д.). Это мотивирует медиков к увеличению числа оказанных медицинских услуг, их удорожанию, к оказанию более дорогих и не всегда действительно необходимых пациенту услуг. Так, в США в 2011 году, по данным Национального центра медицинской статистики, на здравоохранение было израсходовано 2,7 триллиона долларов с ежегодным ростом этого показателя в 2015–2023 году на 6% [5]. В 2015 году на здравоохранение в США было потрачено уже 3,2 триллиона долларов [6]. Это первое место в мире по затратам и только 50-е место по эффективности (Bloomberg-2016). По мнению T. Latkovic (2013) [1], внедрение в США системы оплаты, привязанной к исходу заболевания, за предстоящее десятилетие позволит сэкономить триллион долларов, а к 2018 году, по его мнению, до 50% всех медицинских платежей в США будут производиться, исходя из достижения положительного для больного исхода заболевания. В условиях мирового экономического кризиса, поразившего, в том числе, и нашу страну, рассмотреть возможные положительные стороны другого принципа оплаты за оказанную медицинскую помощь было бы весьма полезно. По мнению английских разработчиков такой системы [3,4], оплату необходимо производить в случае положительного исхода заболевания, а контракт на оплату должен заключаться не с одной медицинской организацией, а с группой организаций, обеспечивающих этот исход определенному сегменту населения. Это должно уменьшить ежегодно нарастающие, как снежный ком, затраты государств на здравоохранение, поскольку у медицинских организаций больше не будет экономического стимула к увеличению числа услуг и их удорожанию, в то время как положительного исхода заболевания будет выгодно достигать с минимальными затратами на лечебные процедуры.

В случае внедрения принципа оплаты за лечение по исходу заболевания затраты на здравоохранение могут уменьшиться на 10% или более за счет устранения потерь и неэффективности (избыточного ухода, неправильного использования и т.д.). Кроме того, это может привести к уменьшению медицинской инфляции, например, за счет вытеснения малоэффективных, дорогостоящих технологий и широкого применения первичной и вторичной профилактики [1].

Этапы внедрения медицины, ориентированной на исход заболевания

Внедрение принципов медицины, ориентированной на исход заболевания, предполагает несколько этапов. Прежде всего, необходимо провести обучение участвующих в пилотном проекте организаций. Поскольку в некоторых странах отдельные этапы этого внедрения уже осуществляются [3,4], у нас есть реальная возможность воспользоваться их опытом. Так, в Лондоне уже несколько лет работает общественная организация, оказывающая помощь по внедрению этой системы и имеющая свой сайт (outcomesbasedhealthcare.com). В Оксфордской организации «Better Value Healthcare» (BVHC) Muir Gray на многочисленных семинарах обучает слушателей принципам ценностного здравоохранения (http://www.bettervaluehealthcare.net/). В 2015 году в США вступил в силу закон MACRA («Medicare Access and

CHIP Reauthorization Act of 2015») согласно которому оплата за медицинские услуги будет привязана к качеству медицинской помощи: за высокое качество будут выплачиваться бонусы, за низкое — взыматься штрафы [7].

1. Выделение групп населения с близкими потребностями

Успех внедрения принципов медицины, ориентированной на исход заболевания, во многом определяется выделением групп населения с близкими потребностями при оказании первичной медицинской помощи и профилактике. Одно и то же лечение не может удовлетворить разные демографические группы населения, отличающиеся состоянием здоровья, потребностями в здравоохранении и приоритетами. Так, пожилой пациент с переломом бедра не должен находиться в одной группе с молодым спортсменом, получившим аналогичную травму. Однако чрезмерное дробление на очень узкие сегменты населения какого-либо региона создаст организационные трудности при оценке исходов. Критерии для разделения населения на группы следующие [2]:

- однородность по ожиданиям и приоритетам здоровья;
- отличительность — в каждой группе должны быть люди с уникальным состоянием здоровья и потребностями в медицинской помощи;
- включение каждого жителя региона в какую-либо группу, при этом возможна миграция между группами в связи с изменениями состояния здоровья.

При оказании специализированной медицинской помощи исходы заболевания оцениваются у пациентов с одинаковыми заболеваниями.

2. Разработка критериев исхода

После разделения населения региона на группы с близкими потребностями необходимо определить исходы у каждой из этих групп. В этом процессе должны участвовать медики, оказывающие услуги данному сегменту населения, страховые компании, которым предстоит оплачивать медицинскую помощь по мере достижения положительного исхода, и сами пациенты, входящие в конкретную группу. При этом определяемые участниками исходы заболеваний должны быть значимыми, достоверными и измеримыми. В Великобритании определение таких исходов проводится на семинарах («Вечеринках исходов») с участием всех перечисленных выше участников, в том числе большого числа пациентов (South Somerset Symphony Project (2014) http://www.rightcare.nhs.uk/index.php/2014/03/research-finds-that-costs-of-healthand-social-care-are-driven-more-by-an-individuals-morbidity-profile-than-by-their-age/; Personal outcomes and quality measures project (2013), http://www.alliance-scotland.org.uk/what-we-do/projects/personaloutcomes-and-quality-measures-project/).

Существует несколько источников данных для определения исходов. Самые доступные в настоящее время — это данные, полученные из медицинской документации (медицинские карты стационарного или амбулаторного больного, лучше в электронной форме), данные медицинской статистики, различные отчеты в страховые компании и органы управления здравоохранением. Важны такие показатели, как летальность, длительность пребывания больного на койке, наличие осложнений, наличие повторных госпитализаций или операций, различные лабораторные и инструментальные показатели: уровень глюкозы при диабете, артериального давления при гипертонической болезни, доля удаленной опухоли мозга по данным МРТ и др. Однако приоритетными с точки зрения удовлетворенности исходом заболевания являются данные, полученные от самого пациента. Для этого используются различного рода стандартные опросники, в которых оцениваются общие данные по исходам (например, EQ-5D, SF-36), или связанные с определенным заболеванием опросники (например, The Oxford Hip Score, Audit of Diabetes Dependent Quality of Life — ADDQoL, PHQ9, Hospital Anxiety and Depression Scale). Предполагается разработать опросники, созданные с участием самих пациентов, которые в еще большей степени будут ориентированы на полезность исхода для больного.

Ряд национальных (Outcome-based healthcare, Великобритания) и международных (International Consortium for Health Outcomes Measurement, International Society for Pharmacoeconomics and Outcome Research) организаций разрабатывают стандартные наборы исходов при различных состояниях и для определенных групп населения. На национальном уровне здравоохранение Швеции и Дании являются явными лидерами в создании национальных реестров качества, охватывающих многие заболевания. В Соединенных Штатах федеральное законодательство определило универсальные измерения исходов и отчетности всем поставщикам при трансплантации органов, экстракорпоральном оплодотворении и гемодиализе [8].

Ценностная медицина (Value-based medicine), кроме полезных для больного исходов, оценивает стоимость лечения и в широком смысле определяется как «исходы, деленные на расходы» [9]. Улучшение исходов при неизменности затрат или сни-

жение затрат при неизменности исходов приводят к росту ценностной медицины [8].

Ценностная медицина (Value-based medicine) является ценностным дополнением доказательной медицины (Evidence-based medicine) и нет смысла их противопоставлять. И та и другая являются ответом на возрастающую сложность в принятии решений в здравоохранении: доказательная медицина — ответ на нарастающую сложность существующих фактов, ценностная медицина — ответ на возрастающую сложность существующих ценностей [10]. Оба подхода строятся на основе доказанной клинической и экономической эффективности и направлены на выбор оптимальной медицинской стратегии.

«Ценностность» в ценностной медицине — это более широкое понятие, чем цена или стоимость, и она подразумевает определенный философский, этический оттенок, прежде всего в виде значимости и важности для самого пациента. В этом смысле ценностная медицина и медицина, ориентированная на исход заболевания, имеют одинаковую цель — удовлетворение потребностей пациента, достижение положительного для него исхода заболевания.

3. Измерение исходов

После выделения источников данных, определяющих исходы, необходимо перейти к их регистрации и измерению у выбранного ранее сегмента населения (при первичной медицинской помощи и профилактике) или у пациентов с определенным заболеванием (в случае специализированной медицинской помощи). Оптимальным вариантом является экспорт данных из электронных карт стационарного и амбулаторного больного, электронных статистических форм, отчетов медицинских организаций для страховых компаний в разработанную для каждого сегмента населения электронную базу данных. Сюда же должны заноситься данные из стандартных опросников, заполняемых пациентами до, в течение и после лечения. После разработки опросников с участием пациентов (в Великобритании они находятся в процессе разработки) и заполнения их — данные тоже должны поступать в ту же общую базу. После этого все данные должны обрабатываться и представлять некий интегрированный результат оценки исхода у конкретного сегмента населения за определенный период времени: месяц, квартал, год.

4. Оплата по исходам

Основной целью перехода на медицину, ориентированную на исход заболевания, как уже отмечалось выше, является привязка оплаты к достижению положительных для пациента исходов заболевания. Поэтому важным этапом в становлении этой системы является преобразование существующей практики оплаты за выполненную медицинскую услугу, что требует пересмотра и внедрения новых контрактов между поставщиками медицинских услуг и страховыми организациями. Эти контракты должны заключаться не с отдельной медицинской организацией, а с группой организаций, обеспечивающих для выбранного сегмента населения положительный исход заболевания. Важным условием подобного вида контракта является мотивация каждого участника к достижению общего положительного результата, что требует создания подразделения интегрированной медицинской помощи [3].

M. Porter (2016) [11] считает, что оплата из расчета на одного человека за год (capitation) в меньшей степени отражает интересы конкретного больного и нацелена на улучшение показателей здоровья всего населения. При этом данная система оплаты достаточно успешно справляется с задачей по сокращению расходов на здравоохранение. Достижения интересов конкретного больного при одновременном сокращении финансовых затрат можно добиться за счет пакетных оплат (bundled payments), при которых медики получают оплату за весь цикл медицинских услуг при лечении определенного состояния или при оказании помощи выделенному сегменту населения в случае первичной медицинской помощи или профилактики. Существуют два основных варианта для разработки модели пакетной оплаты с целью стимулирования коллективного достижения результатов [3]: первый состоит из интеграции общих затрат, связанных со всеми услугами, в том числе деятельности, процессов и результатов в рамках одного пакетного контракта; второй состоит из включения только той части общих затрат, которые привели к достижению положительных результатов в рамках комплексного контракта, в то время как существующие контракты — для деятельности и процессов в основном остаются неизменными. Второй вариант перехода на новые условия контрактов менее рискован для поставщиков медицинских услуг, поскольку часть оплаты происходит по старой схеме, за выполненные услуги, а оплата за достижение положительного для больного исхода заболевания происходит в виде бонуса, если этот результат был достигнут.

Таким образом, этапы перехода на принципы медицины, ориентированной на исход заболевания, представляются следующими:

- обучение заинтересованных лиц общим принципам предстоящих изменений;

- сегментация населения на группы со сходными интересами к исходу заболевания;
- определение исходов для каждого сегмента населения;
- изменение организации оказания медицинской помощи с интеграцией ее вокруг выделенного сегмента населения (формирование подразделений интегрированной медицинской помощи);
- заключение контрактов между страховой организацией и группой поставщиков медицинских услуг;
- измерение исходов в выделенном сегменте населения;
- оплата в соответствии с результатом достижения намеченного исхода.

Перспективы для России

Внедрение принципов медицины, ориентированной на исход заболевания, вряд ли возможно в отдельном медицинском учреждении. Для осуществления такого пилотного проекта, вероятно, необходимо участие большинства медицинских организаций и страховых компаний какого-либо крупного региона. Однако подготовительный этап, представляющий разработку принципов сегментации населения с близкими потребностями к исходу заболевания, разработку критериев оценки этих исходов в различных группах населения и оценку исходов, вероятно, может быть осуществлён в ряде крупных медицинских организаций с последующим использованием полученных результатов при полномасштабном внедрении данного проекта в масштабах страны или в крупном регионе.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Latkovic T, The Trillion Dollar Prize. Using outcomes-based payment to address the US healthcare financing crisis. http://healthcare.mckinsey.com/sites/default/files/the-trillion-dollar-prize.pdf
2. Latkovic T, Claiming the $1 trillion prize in US health care. http://www.mckinsey.com/industries/healthcare-systems-and-services/our-insights/claiming-the-1-trillion-prize-in-us-health-care
3. Outcomes based approaches to healthcare. http://outcomesbasedhealthcare.com/OBH_Outcomes_Myths_2014.pdf
4. Contracting for Outcomes A Value-Based Approach. http://outcomesbasedhealthcare.com/Contracting_for_Outcomes.pdf
5. Health, United States, 2013. https://www.cdc.gov/nchs/data/hus/hus13.pdf
6. Young J, America Spent More Than $3 Trillion On Health Care Last Year. http://www.huffingtonpost.com/entry/america-spent-more-than-3-trillion-on-health-care-last-year_us_57868091e4b08608d332956a
7. Frieden J, Senate Passes Historic SGR Repeal Bill By Vote of 92-8. http://www.medpagetoday.com/washington-watch/washington-watch/50991
8. Porter ME, What Is Value in Health Care? N Engl J Med. 2010; 363: 2477-2481
9. Lawrence L, Defining "Value" in Value-Based Medicine: A Work in Progress. http://www.ashclinicalnews.org/defining-value-in-value-based-medicine-a-work-in-progress-3/
10. Schramme T, Thome J. Philosophy and Psychiatry. Berlin/Boston: De Gruyter, 2012: 50-80.
11. Porter ME, Kaplan RS, How to Pay for Health Care. https://hbr.org/2016/07/how-to-pay-for-health-care

Информация об авторах:

Шляхто Евгений Владимирович, академик РАН, президент РКО, генеральный директор ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава РФ;

Яковенко Игорь Васильевич, д.м.н., профессор ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава РФ.

Author information:

Evgeniy V. Shlyakhto, ademician of the Russian Academy of Sciences, Honored Scientist of Russia, President of the Russian Society of Cardiology, Director of the Federal Almazov North-West Medical Research Centre;

Igor V. Yakovenko, MD, professor, Federal Almazov North-West Medical Research Centre.

ISSN 2311-4495
ISSN 2410-5155 (Online)
УДК 618.2:616.379

СРАВНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ АКУШЕРСКИХ ТАКТИК ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОК С ГЕСТАЦИОННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ НА ПРИМЕРЕ ДВУХ ЛОКАЛЬНЫХ ПРОТОКОЛОВ

Беттихер О.А., Зазерская И.Е., Попова П.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация
Беттихер Офелия Андреевна
ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Россия, 197341.
E-mail: ophelia.bettikher@gmail.com

Статья поступила в редакцию 14.01.2017 и принята к печати 16.04.2017 .

Резюме

Цель. Оценить исходы родов у пациенток с гестационным сахарным диабетом (ГСД) при выборе различной тактики родоразрешения.

Материалы и методы. На базе Перинатального Центра (ПЦ) ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России проведено сравнительное когортное ретроспективное исследование, в которое включены 443 пациентки с ГСД, родоразрешённые в 2014 и 2015 годах по двум локальным протоколам, соответственно, и по этому принципу разделены на 2 группы: первую группу составила 251 пациентка, вторую — 192. Оценены исходы родов в каждой группе.

Результаты. Частота осложнений родов, таких как дискоординация родовой деятельности (p=1) и гипоксия плода (p=0,236), значимо не различались между группами после индукции: 7% (3 от 43) и 9,3% (4 от 43) — в первой, 7,7% (2 от 26) и 11,5% (3 от 26) — во второй группе, соответственно. Клинически важно то, что вдвое сократилась частота слабости родовой деятельности во второй по сравнению с первой группой: 7% (3 от 43) против 15,4% (4 от 26), что, однако, статистически незначимо для данного размера выборки (p=1). Частота диабетической фетопатии (p=0,341), макросомии (p=0,364), экстренного оперативного родоразрешения (p=0,694) значимо не отличались между группами ни клинически, ни статистически.

Выводы. Персонифицированный подход к срокам родоразрешения у пациенток с ГСД при отсутствии показаний для раннего родоразрешения приводит к сокращению числа осложнений родов. Считаем необоснованным применение единого стандарта родоразрешения в 38-39 недель у всех пациенток с ГСД, такая тактика должна быть применена в группе риска по антенатальной гибели плода.

Ключевые слова: гестационный сахарный диабет; аномалии родовой деятельности; диабетическая фетопатия; сроки родоразрешения; способы разрешения.

Для цитирования: Трансляционная медицина. 2017; 4 (1): 11–19.

EVALUATION OF DIFFERENT DELIVERY TACTICS IN PATIENTS WITH GESTATIONAL DIABETES ACCORDING TO THE TWO LOCAL PROTOCOLS

Bettikher O.A., Zazerskaya I.E., Popova P.V.

Federal Almazov North-West Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:
Ofelia A. Bettikher
Federal Almazov North-West Medical Research Centre
Akkuratova str. 2, Saint Petersburg, Russia, 197341
E-mail: ophelia.bettikher@gmail.com

Received 14 January 2017; accepted 16 April 2017.

Abstract

Objective. To evaluate clinical outcomes of labour induction in patients with gestational diabetes (GD) regarding the choice different delivery tactics.

Design and methods. The cohort retrospective study including 443 patients with gestational diabetes had given birth during 2014 and 2015 was conducted on the base of Federal North-West Medical Research Centre due to two different local clinical protocols, respectively. The patients were subdivided into two groups: first group — 251 women with GD (2014), second group — 192 (2015). Labour outcomes of the labour outcomes were estimated in each group.

Results. Complications of labour such as dysthyroidism (p=1) and fetal distress (p=0,236) did not significantly differ between groups after induction of labour: 7% (3 of 43) and 9,3% (4 of 43) — in the first, 7,7% (2 of 26) and 11,5% (3 of 26) — in the second group, respectively. Clinically important is the fact that uterine inertia was twofold lower in the second group comparing to the first one: 7% (3 of 43) and 15,4% (4 of 26), respectively, that ii however not statistically significant for this size of data selection (p=1). The rate of diabetic embryopathy (p=0,341), macrosomia (p=0,364), urgent caesarean section (p=0,694) did not significantly differ between groups.

Conclusion. Lengthening of expectant management in patients with GD in the absence of other indications for earlier delivery has led to the decrease in labour complications. Single standard tactic probably cannot be regarded as an appropriate choice for labour at 38-39 weeks for all patients with GD, such tactic should be used in the risk group for antenatal fetal death.

Key words: gestational diabetes, diabetic embryopathy, dysthyroidism, uterine inertia, delivery time.

For citation: Translyatsionnaya meditsina= Translational Medicine. 2017; 4 (1): 11–19.

Список сокращений

ГСД — гестационный сахарный диабет, КТГ — кардиотокография

Актуальность

Известно, что гестационный сахарный диабет — это наиболее частое нарушение углеводного обмена среди беременных, охватывающее по разным данным от 1% до 20% беременных (в среднем 7%) [1,2]. Интерес к проблеме гестационного сахарного диабета вызван тем, что за последние десятилетия отмечен стабильный рост частоты данного осложнения беременности. В литературе имеется множество эпидемиологических исследований, приведём два из них. По данным МОНИИАГ, с 2008 по 2014 гг. рост частоты ГСД составил практически 3% — с 2,25% до 4,93%. По результатам же эпидемиологического исследования среди беременных региона Альберта в Канаде с 2000 по 2009 гг. рост составил 1,5%, однако забо-

леваемость сопоставима с отечественными данными: 3,1% в 2000 г. и 4,6% в 2009 г. [3,4].

С ростом заболеваемости гестационным сахарным диабетом растет и число ассоциированных с ним осложнений беременности. Серьёзная проблема: преэклампсия и ГСД — два состояния с системной эндотелиальной дисфункцией, утяжеляющие течение друг друга. При развитии ГСД повышаются риски оперативного родоразрешения, инфекционных осложнений в послеродовом периоде, травм мягких родовых путей, послеродовых кровотечений, развития кардиометаболических расстройств и СД 2-го типа как для матери, так и для плода, метаболического синдрома у ребёнка в будущем, развития диабетической фетопатии, которая ассоциирована с повышенной перинатальной заболеваемостью и смертностью: превышает в 2–5 раз среднепопуляционную [5,6].

Сам по себе гестационный диабет не является показанием к экстренному родоразрешению, однако в сочетании с преэклампсией, декомпенсацией сердечно-сосудистых и некоторых других заболеваний, отслойкой плаценты, СЗРП с нарушением функционального состояния плода и другими состояниями, являющимися противопоказанием к пролонгированию беременности, может стать таковым.

Самым грозным осложнением для плода является его антенатальная гибель, которую трудно прогнозировать, а причины которой до настоящего времени неясны. Частота данного осложнения, а также макросомии и связанных с ней, прежде всего, дистоции плечиков в родах, повышается при достижении доношенного срока [1]. Указанные причины являлись основанием для создания рекомендаций Американской диабетической ассоциации (ADA) о предпочтительном родоразрешении беременных с гестационным сахарным диабетом в 38 недель [7,8]. Подобная тактика может привести к увеличению рисков, связанных как с родовым актом из-за возможной неготовности организма матери и плода к родам, так и непосредственно индукцией родов: дистресс плода, СДР плода, отсутствие эффекта от родовозбуждения, аномалии родовой деятельности, экстренное кесарево сечение [9].

После публикации крупнейшего исследования влияния гипергликемии на исходы беременности (HAPO) Международной Ассоциацией по изучению диабета и беременности (IADPSG) были приняты новые более, строгие критерии диагностики ГСД, так как доказано, что повышение рисков для плода наиболее значимо происходит при достижении гликемии натощак 5,1 ммоль/л, что определило изменение терапии ГСД с более ранним назначением инсулина с целью профилактики осложнений для плода.

Актуальным является анализ родоразрешения пациенток с гестационным сахарным диабетом. В связи с увеличением рисков как для беременной, так и для плода уже при пограничных значениях гликемии был создан новый российский протокол ведения беременных с ГСД со строгими критериями диагностики заболевания и ранним назначением инсулинотерапии, активной тактикой родоразрешения [2]. Однако наряду с уменьшением рисков антенатальной гибели плода данная тактика привела к увеличению частоты родовозбуждения и связаннх с ним интра- и постнатальных рисков осложнений, чему и посвящена данная статья [10].

Цель исследования

Оценить исходы родов у беременных с гестационным сахарным диабетом при выборе различной тактики родоразрешения.

Материалы и методы

Проведено сравнительное когортное ретро- и проспективное исследование, в которое включены 443 пациентки с гестационным сахарным диабетом, родоразрешённые в Перинатальном Центре ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России в 2014 и 2015 годах, разделенные на 2 группы. В ретроспективное исследование (первая группа) включена 251 пациентка. В первой группе 210 пациенток получали диетотерапию, 41 — инсулинотерапию. В проспективное исследование (вторая группа) включены 192 пациентки. Во второй группе 154 женщины получали диетотерапию, 38 — инсулинотерапию.

Критерии включения:

Первая группа: беременные с гестационным сахарным диабетом, родоразрешённые в Перинатальном Центре ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России в 2014 году согласно «Протоколу ведения беременных, рожениц и родильниц с сахарным диабетом» того же учреждения от 2012 года.

Вторая группа: беременные, наблюдавшиеся в консультативно-диагностическом отделении Перинатального Центра ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России во время беременности и родоразрешённые в 2015 году согласно протоколу «Сахарный диабет и беременность» от 2015 года.

Критерии невключения: сахарный диабет 1-го и 2-го типов

Диагноз ГСД установлен на основании перорального глюкозотолерантного теста (ПГТТ) с 75 г глюкозы у 35,7% (n=158) пациенток в 24–32

недели беременности (более 10,0 ммоль/л через 1 час, более 8,5 ммоль/л через 2 часа). У 64,3% (n=285) женщин диагноз установлен на основании уровня гликемии натощак в диапазоне 5,1-6,9 ммоль/л. Срок постановки диагноза ГСД — 12–32 недели гестации.

Показанием к назначению инсулинотерапии являлся неудовлетворительный контроль гликемии (превышение уровня глюкозы 7,0 ммоль/л через час после еды 2 и более раз за 2 недели самоконтроля) при условии соблюдения диеты в течение 2 недель, после раннего выявления ГСД. Используемые режимы инсулинотерапии: базисный 41,8% (n=33), базис-болюсный 19,0% (n=15), болюсный 39,2% (n=31).

Диабетическая фетопатия — диагноз, основанный на учёте оценки нескольких ультразвуковых признаков из комплекса:

- крупный плод (более 90-го процентиля для данного срока гестации, или более 4 кг);
- увеличение толщины подкожного жирового слоя у плода, увеличение буккального коэффициента;
- кардиомегалия, кардиопатия (кардиоторакальный индекс более 25%, утолщение межжелудочковой перегородки);
- гепатомегалия, спленомегалия;
- гиперплазия коры надпочечников плода (увеличение надпочечникового коэффициента более 1,2);
- гиперплазия поджелудочной железы плода [11,12,13].

Критерии диагностики ГСД соответствовали таковым в последнем протоколе, упомянутом выше, и использовались эндокринологом ПЦ для всех пациенток.

С 2012 года после выхода российских клинических рекомендаций в СЗФМИЦ опубликовано 2 локальных клинических протокола. В обоих показаниями для досрочного родоразрешения (до 37 недель) являлись: плохой гликемический контроль матери, не поддающийся коррекции, нарушение жизнедеятельности плода по данным КТГ, допплерометрии (в сочетании с фетопатией или без), а также другие акушерские причины (тяжелая преэклампсия, не поддающаяся терапии и др.). Выделена так называемая группа активной тактики — родоразрешение в 37-40 недель. В этой группе к показаниям для досрочного родоразрешения добавлены макросомия и признаки диабетической фетопатии плода даже при нормальных данных КТГ, допплерометрии (таблица 1) [14,15].

Различием между документами является длительность выжидательной тактики при отсутствии показаний для более раннего родоразрешения — в 2012 году до 39–40 недель, а в протоколе 2015 года — до 40–41 недели [14,15].

При активной тактике ведения родов (37–40 нед.) выбор между естественным и оперативным родоразрешением проводят в зависимости от состояния плода и матери и условий для родоразрешения [14,15].

В протоколе 2015 года также появился подробный алгоритм амбулаторного ведения пациенток после диагностирования ГСД с обязательным УЗИ плода и допплерометрией в 36/37 недель для определения дальнейшей тактики ведения пациентки и регулярным наблюдением эндокринологом, акушером-гинекологом, выполнением функциональных тестов [14,15].

Таблица 1. Протоколы ведения беременных с ГСД в ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова»

	Локальный протокол (2012 г.)	**Локальный протокол (2015 г.)**
Основная группа беременных	При отсутствии показаний для более раннего родоразрешения возможно дождаться спонтанных родов в **39–40 недель**	**40–41 неделю**
Показания для досрочного родоразрешения (до 37 недель)	• Плохой гликемический контроль матери, не поддающийся коррекции • Нарушение жизнедеятельности плода по данным КТГ, допплерометрии (в сочетании с фетопатией или без) • По другим акушерским причинам (тяжелая преэклампсия**,** не поддающаяся терапии, и др.)	
Показания для родоразрешения в 37-40 недель (активная тактика)	Те же, что и до 37 недель, плюс: • Макросомия • Признаки диабетической фетопатии плода даже при нормальных данных КТГ, допплерометрии	

Рисунок 1. Сроки родовозбуждения в двух группах у беременных, получающих диетотерапию

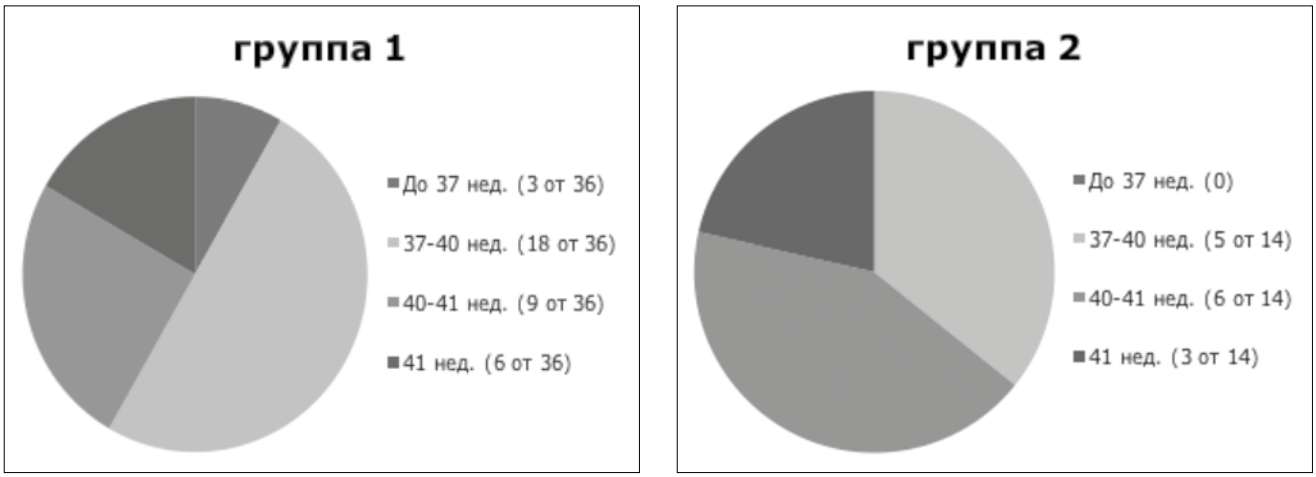
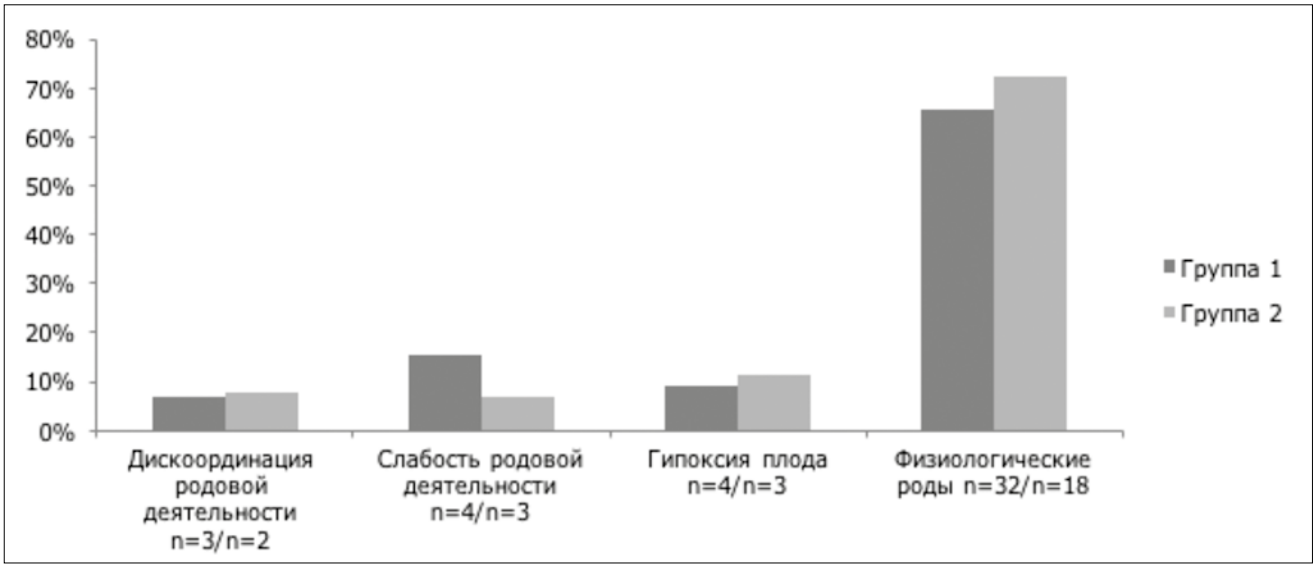


Рисунок 2. Осложнения родов после индукции в двух группах



Оценены исходы родов, сроки и способы родоразрешения в каждой группе. Средний возраст между группами значимо не отличался и составил 33,2+/-4,8 лет в первой группе и 33,8 +/-5,1 лет — во второй. Статистическую обработку полученных данных производили с использованием статистической программы SPSS 21.0 (SPSS Inc., США). Данные представлены в виде M±SD, где M — среднее значение, SD — стандартное отклонение. Для оценки отличий количественных признаков между группами использовали критерий Стьюдента. Для сравнения распределения качественных признаков использовали критерий $\chi 2$. Различия считали достоверными при $p<0,05$.

Результаты

При сравнении способов родоразрешения между группами частота планового кесарева сечения значимо не отличалась (p=1) и составляла 8% (20 от 251) в первой и 8,3% (16 от 192) во второй группе и, в целом, не была связана непосредственно с гестационным сахарным диабетом. Показаниями для планового кесарева сечения в обеих группах являлись: сочетание крупного плода и рубца на матке после операции кесарева сечения (n=9), патологическое положение плода (n=7), аномалии развития мочеполовой системы (n=5), преждевременное излитие околоплодных вод у беременных с многоплодием (n=3), срок гестации более 41 недели и 3-х дней в сочетании с отсутствием биологической готовности к родам (n=4), полное предлежание плаценты (n=8). Частота индукции родов во второй группе меньше (13,5% (26 от 192)), чем в первой (17,1% (43 от 251)) (p=1). Таким образом, особого внимания заслуживает тот факт, что возрос процент спонтанных родов во второй группе по сравнению с первой: 78,2% (150 от 192) и 74,9% (188 от 251) (Таблица 2).

Рисунок 3. Частота макросомии и диабетической фетопатии антенатально в двух группах

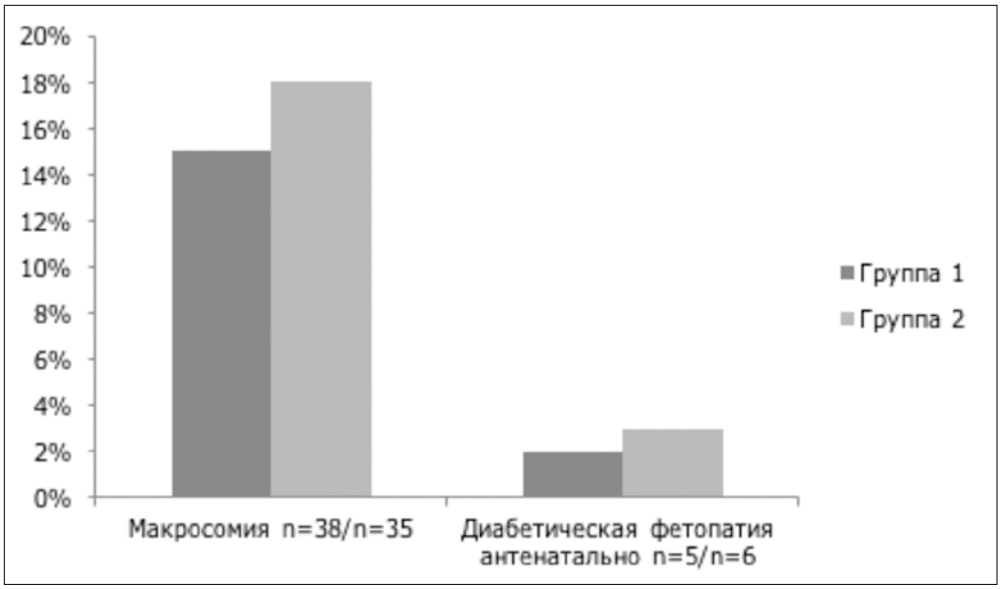


Таблица 2. Исходы родов в двух группах

Показатель	Группа 1	Группа 2	P
Плановое кесарево сечение	8 % (20 от 251)	8,3% (16 от 192)	(p=1)
Родовозбуждение	17,1% (43 от 251)	13,5% (26 от 192)	(p=1)
Спонтанные роды	74,9% (188 от 251)	78,2% (150 от 192)	(p=1)
Экстренное кесарево сечение при спонтанных родах	16% (30 от 188)	18,70% (28 от 150)	(p=0,694)
Экстренное кесарево сечение при индуцированных родах	18,60% (8 от 35)	19,20% (5 от 26)	(p=0,694)
Дискоординация родовой деятельности в подгруппах после родовозбуждения	7% (3 от 43)	7,7% (2 от 26)	(p=1)
Гипоксия плода в подгруппах после индукции родов	9,3% (4 от 43)	11,5% (3 от 26)	(p=0,236)
Слабость родовой деятельности в подгруппах после индукции родов	15,4% (4 от 26)	7% (3 от 43)	(p=1)
Макросомия	15% (38 от 251)	18% (35 от 192)	(p=0,364)
Диабетическая фетопатия	2% (5 от 251)	3% (6 от 192)	(p=0,341)

Частота родовозбуждения в первой группе не отличалась между подгруппами пациенток с разными видами терапии и составила 17,1% (p=1). Роды индуцированы во второй группе чаще у пациенток, получавших инсулинотерапию: 36,8% (14 от 38) по сравнению с теми, кто получал диетотерапию: 9,1% (14 от 154) (p<0,001). Частота родовозбуждения в группе пациенток, получавших

диетотерапию, традиционно более дисциплинированных, с меньшим числом факторов риска осложнений и лучше контролируемым гестационным сахарным диабетом, уменьшилась с 17,1% в 2014 году до 9,1% в 2015 году (p=0,031). Частота родовозбуждения в группе инсулинотерапии с большим числом факторов риска гестационных осложнений, нередко трудно контролируемым течением гестационного сахарного диабета, составляла в 2015 году 36,8%, по сравнению с 2014 годом — 17,1% (p=0,12). Повышение частоты индукции родов в этой группе пациенток в 2015 году было связано также с изменением приоритета на госпитализацию более тяжелых пациентов в 2015 году.

Сроки индукции родов у пациенток, получающих диетотерапию: во второй группе индукция не выполнена ни в 1 случае преждевременно (до 37 недель) в отличие от первой группы — 8,3% (3 от 36). Реже применена «активная тактика ведения родов» во второй группе — 35,6% (5 от 14), по сравнению с первой: 50% (18 от 36). Индукция родов в сроке 40–41 неделя выполнена чаще во второй группе — 42,6% (6 от14), по сравнению с первой — и 25% (9 от 36). Данные продемонстрированы на рисунке 1 (p=0,318).

Частота осложнений родов, таких как дискоординация родовой деятельности и гипоксия плода, значимо не различалась между группами после индукции. Вероятно, это можно объяснить тщательным ведением пациенток с регулярным гликемическим контролем, фетометрией в 36/37 недель беременности с дальнейшим выбором тактики ведения. Таким образом, частота диабетической фетопатии, макросомии значимо не отличались между группами. Однако вдвое сократилась частота слабости родовой деятельности во второй по сравнению с первой группой, что можно связать с более индивидуализированной тактикой родоразрешения, смещением приоритета на выжидательную при отсутствии показаний для более раннего родоразрешения, что в свою очередь привело к увеличению доли пациенток с достаточной готовностью организма к родам. Частота экстренного оперативного родоразрешения значимо не отличались между группами. Данные представлены в таблице 2.

Обсуждение и выводы

Несмотря на высокий интерес к проблеме ГСД со стороны исследователей, акушеров-гинекологов и эндокринологов, до сих пор не сложилось единого мнения относительно тактики ведения беременных с гестационным сахарным диабетом. Опубликовано большое количество литературных данных, посвященных проблеме патогенеза инсулинорезистентности при беременности, особенностях обмена гормонов, метаболитов и цитокинов при ГСД, эндокринологических особенностях ведения данных пациенток. Однако нет стандартизированного алгоритма тактики ведения, способов и сроков родоразрешения беременных с ГСД. [9]

Мировая тенденция такова, что стандарты ведения и родоразрешения беременных с ГСД дискуссионны и требуют дополнительных исследований. Клинические протоколы ведения российских и международных сообществ акушеров-гинекологов нередко по содержанию рекомендаций противопоставлены друг другу. Так, Американская диабетическая ассоциация рекомендует родоразрешать беременных с ГСД в 38 недель беременности, Французская национальная организация здравоохранения — до 39 недель, Американская коллегия акушеров-гинекологов и Израильское общество акушеров-гинекологов — до 40 недель при хорошо контролируемом ГСД, а МЗ России — в 38–39 недель беременности. Однако все исследователи едины во мнении, что при плохо контролируемом ГСД требуется родоразрешать женщин при сроке 37–38 недель. Согласно мнению авторов, это снизит мертворождаемость и частоту осложнений в родах. Но, в то же время, данная тактика ожидаемо повысит частоту развития респираторного дистресс-синдрома новорожденных и приведет к увеличению интенсивности ведения пациентов в неонатальном периоде. Ни одна из тактик изолированно (срок беременности, предполагаемая масса плода), согласно результатам исследований, не может считаться приемлемой для пациенток с ГСД [9].

По данным настоящего исследования, такие осложнения родов, как дискоординация и слабость родовой деятельности, клинически встречаются чаще в индуцированных родах, чем при спонтанном их течении: 7 от 43 (16,3%) и 6 от 188 (3,2%), 3 от 43 (7%) и 0 от 188 (0%), соответственно. Гипоксия плода встречалась в 10,6% (20 от 188) и в 9,3% (4 от 43) случаев при спонтанном и индуцированном течении родов, соответственно. При этом результатом более длительной выжидательной тактики ведения родов (до 40–41 недели гестации) у пациенток с «хорошим» гликемическим контролем и отсутствием показаний для более раннего родоразрешения явилось клинически, но не статистически для данного размера выборки, уменьшение частоты слабости родовой деятельности более, чем в 2 раза по сравнению с тактикой родоразрешения до 39–40 недель: 7% (3 от 43) против 15,4% (4 от 26) при отсутствии отличий в частоте других осложнений родов. Статистически значимым явилось то, что при измене-

нии тактики родоразрешения на выжидательную для пациенток с отсутствием значимых факторов риска антенатальной гибели плода не произошло ухудшения исходов родов [16].

По мнению авторов Р.В. Капустина, О.Н. Аржановой и соавт. (2014), накопленных мировых данных недостаточно для решения проблемы снижения риска возможной антенатальной гибели плода [9]. Это заставляет планово родоразрешать беременных при гестационном сахарном диабете. Отсутствие таких доказательств — причина разногласий сообществ акушеров-гинекологов по тактике родоразрешения при ГСД. Очевидно, что плановое родоразрешение таких пациенток должно быть выполнено на основе индивидуального подхода: с учётом срока беременности, клинических и ультразвуковых данных, предполагаемой массы плода, степени контроля гликемии, наличия и эффективности инсулинотерапии, акушерского анамнеза, паритета родов и состояния мягких родовых путей [9].

На основании данного исследования мы придерживаемся следующей позиции: нет оснований для родовозбуждения беременных только по причине гестационного сахарного диабета при отсутствии других показаний. Раннее родоразрешение при недостаточной готовности организма беременной к родам повышает риск развития аномалий родовой деятельности и других связанных осложнений родов. Вероятно, не обосновано применение активной тактики ведения родов (37–40 недель) у всех беременных с гестационным сахарным диабетом. При удовлетворительном гликемическом контроле, отсутствии патологии плода, преэклампсии у пациенток с гестационным сахарным диабетом следует взвешивать пользу и риск в результате индуцированного родоразрешения до 40 недель. Считаем более правильным при указанных условиях подготовку беременных к родам и родоразрешение до 41 недели гестации под тщательным мониторным наблюдением за состоянием плода. Данное исследование может служить основой для более детального изучения поднятой проблемы, поиска новых методов диагностики состояния плода.

Финансирование исследования

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект №15-14-30012).

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. HAPO Study Cooperative Research Group, Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. N. Engl. J. Med. 2008; 358(19):1991-2002.

2. Clinical recommendations of Russian Ministry of Health «Gestational diabetes mellitus: diagnosis, treatment, postpartum management». 2013. In Russian [Протокол лечения: «Гестационный сахарный диабет: диагностика, лечение, послеродовое наблюдение. Клинические рекомендации» МЗ России от 17.12.2013г.].

3. Krasnopol'skiy VI. Report «Diabetes and preeclampsia». Forum mother and child, Moscow, 2015. in Russian [Краснопольский В.И. Доклад «Сахарный диабет и преэклампсия». Форум «Мать и дитя», Москва, 2015г.].

4. Kara A. Nerenberg et al. Risks of gestational diabetes and preeclampsia over the last decade in a cohort of Alberta women. J Obstet Gynaecol Can 2013;35(11):986–994

5. Mitanchez D. et al. What neonatal complications should the pediatrician be aware of in case of maternal gestational diabetes? World J Diabetes. 2015; 6(5): 734–743.

6. Castori M. Diabetic Embryopathy: a developmental perspective from fertilization to adulthood. Mol. Syndromol. 2013;4(1-2):74-86.

7. American Diabetes Association. Gestational diabetes mellitus. Diabetes Care. 2004; 27: 88-90.

8. Athukorala C., Crowther CA, Willson K, for the ACHOIS Trial Group. Women with gestational diabetes mellitus in the ACHOIS trial: Risk factors for shoulder dystocia. Aust N Z J Obstet Gynaecol. 2007;47(1): 37-41.

9. view on delivery tactic in pregnancy with gestational diabetes. Journal akusherstva I zhenskikh bolezney=Journal of obstetrics and women diseases. 2014;LXIII(4):4-16. In Russian [Капустин Р.В., Аржанова О.Н., Беспалова О.Н., Ковалева Т.Г. Современные представления о тактике родоразрешения беременных с гестационным сахарным диабетом. Журнал акушерства и женских болезней. 2014; LXIII(4):4-16].

10. Bettikher OA, Zazerskaya IE, Popova PV et al. A comparison of the clinical outcomes of induced and spontaneous labour in patients with gestational diabetes. Sakharniy diabet=Diabetes mellitus. 2016;19(2):158-163. In Russian. [Беттихер О.А., Зазерская И.Е., Попова П.В., Кустаров В.Н. Исходы индуцированных родов у пациенток с гестационным сахарным диабетом. Сахарный диабет. 2016;19(2):158-163].

11. Blut EI, Benson KB. Ultrasound. A practical approach to clinical problems. Ultrasound in obstetrics. 2014 (3) In Russian. [Блют Э.И., Бенсон К.Б. Ультразвуковая диагностика. Практическое решение клинических проблем. УЗИ в акушерстве. — 2014. — Т. 3]

12. Jacquemyn Y, Michiels I, Martens G. Elective induction of labour increases caesarean section rate in low risk multiparous women. J ObstetGynaecol. 2012;32(3):257-259.

13. Sela H, Raz I, Elchalal U. Managing labor and delivery of the diabetic mother. Expert Review of Obstetrics & Gynecology. 2009;4(5):547-554.

14. Clinical recommendations of Federal Almazov North-West Medical Research Centre «Clinical management of pregnancy, labour and postpartum period in patients with gestational diabetes», Saint Petersburg, 2012. In Russian. [Протокол ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова «Протокол веде-

ния беременных, рожениц и родильниц с сахарным диабетом», Санкт-Петербург, 2012г].

15. Clinical recommendations of Federal Almazov North-West Medical Research Centre «Diabetes and pregnancy», Saint Petersburg, 2015. In Russian. [Протокол ведения «Сахарный диабет и беременность» ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова» МЗ России, Санкт-Петербург, 2015г].

16. Lang TA, Sekik M. How to describe statistics in medicine. Annotated manual for authors, editors and readers. Second edition. 2006. [Лэнг Т.А. Как описывать статистику в медицине. Аннотированное руководство для авторов, редакторов и рецензентов Второе издание. 2006 г].

Информация об авторах:

Беттихер Офелия Андреевна — аспирант по специальности «Акушерство и гинекология» ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Зазерская Ирина Евгеньевна — д.м.н., заместитель директора Института перинатологии и педиатрии по научной работе, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Попова Полина Викторовна — к.м.н., заведующая НИЛ эндокринных заболеваний у беременных ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Ofelia A. Bettikher, MD, postgraduate student in obstetrics and gynecology at Federal Almazov North-West Medical Research Centre;

Irina E. Zazerskaya, MD, PhD, Assistant scientific Director of perinatology and pediatrics Institute, Head of Obstetrics and Gynecology department at Federal Almazov North-West Medical Research Centre;

Polina V. Popova, MD, PhD, head of scientific laboratory of endocrine diseases in pregnancy, Federal Almazov Medical Research Centre.

ISSN 2311-4495
ISSN 2410-5155 (Online)
УДК 616-053.2-089

ВЕНТРИКУЛО-СИНУСТРАНСВЕРЗОСТОМИЯ В ЛЕЧЕНИИ ДЕКОМПЕНСИРОВАННОЙ ГИДРОЦЕФАЛИИ У ДЕТЕЙ
(Результаты клинической апробации метода)

Хачатрян В.А.[1], Самочерных К.А.[1], Ким А.В.[1], Николаенко М.С.[1], Сысоев К.В.[1], Дон О.А.[1], Шаповалов А.С.[1], Абрамов К.Б.[1], Иванов В.П.[1], Кобозев В.В.[2]

[1] Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт имени профессора А. Л. Поленова — филиал ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия
[2] Федеральное государственное бюджетное учреждение «Сибирский федеральный биомедицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Новосибирск, Россия

Контактная информация:
Хачатрян Вильям Арамович
«РНХИ им. проф. А. Л. Поленова» — филиал ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России
ул. Маяковского, д. 12, Санкт-Петербург, Россия, 191014
E-mail: wakhns@gmail.com

Статья поступила в редакцию 08.02.2017 и принята к печати 27.03.2017 .

Резюме

Проведен анализ результатов имплантации шунтирующей системы между боковым желудочком и поперечным синусом с гидроцефалией у детей, при лечении которых использование других ликворошунтирующих операций оказалось неэффективным или нецелесообразным. **Материалы и методы.** 50 больным, в возрасте от 2 месяцев до 17 лет, с декомпенсированной внутренней гидроцефалией был осуществлен анастомоз между боковым желудочком и поперечным синусом, посредством имплантации клапанной системы низкого давления или программируемой системой с низкими значениями параметров клапана. Результат операции определен путем оценки динамики количественных клинико-интраскопических проявлений гидроцефалии и гипертензионного синдрома. **Результаты.** Во всех случаях речь шла о выраженной вентрикуломегалии и гипертензионном синдроме. Во всех случаях применение вентрикулоатриостомии и вентрикулоперитонеостомии оказалось неэффективным или нецелесообразным. В результате лечения стабилизация состояния больных и регресс проявлений декомпенсированной гидроцефалии достигнут у 38 детей из 50 (76%). У остальных 12 больных на фоне функционирующего шунта сохранились проявления гидроцефалии, состояние расценено как гиподренажное. По нашим данным, проявления гиподренажа чаще наблюдались в тех случаях, когда венозное давление оказалось высоким и равнялось определенных нами величинах ликворного давления у пациента. **Заключение.** Вентрикуло-синустрансверзостомия может оказаться методом выбора для лечения декомпенсированной гидроцефалии в тех случаях, когда применение классических операций нецелесообразно. Считаем целесообразным интраоперационное проведение оценки венозного давления в синусе, а также корреляция с внутрижелудочковым давлением.

Ключевые слова: гидроцефалия, вентрикуло-синустрансверзостомия, ликворошунтирующие операции.

Для цитирования: Трансляционная медицина. 2017; 4 (1): 20–28.

VENTRICULO-SINUS TRANSVERSAL SHUNT IN THE TREATMENT OF DECOMPENSATED HYDROCEPHALUS IN CHILDREN (The results of clinical testing of the method)

Khachatryan W.A. [1], Samochernyh K.A. [1], Kim A.V. [1], Nikolaenko M.S. [1], Sysoev K.V. [1], Don O.A. [1], Shapovalov A.S. [1], Abramov K.B. [1], Ivanov V.P.[1], Kobozev V.V. [2]

[1] Polenov Russian Scienific Research Institute of Neurosurgery, Saint Petersburg, Russia
[2] Meshalkin Siberian Federal biomedical research centre, Novosibirsk, Russia

Corresponding author:
Wiliam A. Khachatryan
Polenov Neurosurgical Institute
Mayakovskaya str. 12, Saint Petersburg, Russia, 191014
E-mail: wakhns@gmail.com

Received 08 February 2017; accepted 27 March 2017.

Abstract

The analysis of the results of the implantation of a shunt system between the lateral ventricle and the transverse sinus in hydrocephalus in children, the treatment of which the use of other CSF-shunting operations proved ineffective or impractical. **Materials and methods.** 50 patients aged from 2 months to 17 years, with decompensated internal hydrocephalus was performed anastomosis between the lateral ventricle and the transverse sinus, through the implantation of the valve low-pressure system or a programmable system with low values of the valve settings. The result of operations is determined by evaluating the dynamics of quantitative clinical and manifestations of hydrocephaly and hypertensive syndrome. **Results**. In all cases, it was a severe ventriculomegaly and hypertensive syndrome. In all cases, the use of ventriculoatriostomy and ventriculoperitoneostomy proved ineffective or impractical. As a result of the treatment, stabilization of the patients, and the manifestations of decompensated hydrocephalus regression was achieved in 38 of 50 children (76%). In the remaining 12 patients on the background of a functioning shunt preserved manifestations of hydrocephalus, a condition seen as hypodraige. According to our data, hypodraige manifestations were more common in cases where the venous pressure was high and equal to us certain values liquor pressure in the patient. **Conclusion**. Ventriculo-sinus transversal shunt may be the method of choice for the treatment of decompensated hydrocephalus in cases where the application of classical operations is not advisable. We consider it appropriate intraoperative assessment of venous pressure in the sinus, as well as the correlation with intraventricular pressure.

Key words: hydrocephalus, ventriculo-sinus transversal shunt, CSF-shunting operations.

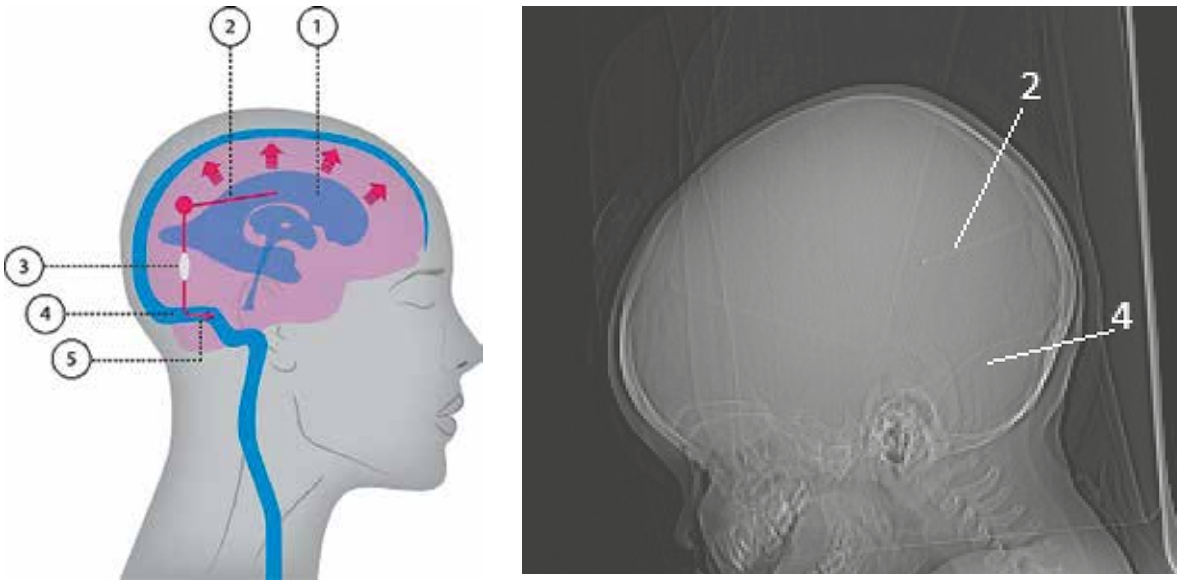
For citation: Translyatsionnaya meditsina= Translational Medicine. 2017; 4 (1): 20–28.

Введение

Ликворошунтирующие операции применяются для коррекции стойких нарушений ликвороциркуляции при невозможности использования этиотропного лечения декомпенсированной гидроцефалии. В мире в год осуществляется более 200 тысяч различных видов шунтирующих вмешательств, при которых избыточный объем цереброспинальной жидкости отводится из желудочков головного мозга во внечерепные пространства и полости организма [1,4,9,14].

В настоящее время наиболее распространенным методом лечения декомпенсированной гидроцефалии является вентрикулоперитонеостомия [1,2,7,9]. В других случаях операцией выбора чаще становится вентрикулоатриостомия [6,8,10]. При неэффективности этих ликворошунтирующих операций лечение больных с гидроцефалией требует применения других способов выведения избыточного количества цереброспинальной жидкости во внечерепные пространства и полости, что и на

Рисунок 1. Вентрикуло-синустрансверзостомия



а — схема локализации шунтирующей системы при имплантации вентрикуло-синустрансверзостомии; б — краниограмма после вентрикуло-синустрансверзостомии расположения шунтирующей системы (1 — боковой желудочек головного мозга; 2 — катетер, установленный в полость бокового желудочка; 3 — клапанное устройство шунтирующей системы; 4 — катетер установленный в поперечный синус; 5 — поперечный синус).

современном этапе по-прежнему остается важной и труднорешаемой проблемой [8,13,15].

За последние десятилетия при лечении гидроцефалии, в случаях, когда применение классических ликворошунтирующих операций было нецелесообразно, применяли вентрикуло-уретральные, вентрикуло-визикальные, вентрикуло-плевральные шунты. Однако эти операции не получили широкого распространения в повседневной нейрохирургической практике ввиду большого количества противопоказаний и возможных осложнений [3,13,15].

Уже в первой половине XX века ведущими специалистами при лечении больных с декомпенсированной гидроцефалией применялись попытки использовать ликворошунтирующие операции, направленные на отведение избыточного объема цереброспинальной жидкости в синусы твердой мозговой оболочки [4,5,11,12]. Подобное решение было обосновано тем, что таким образом повторялся естественный путь ликворорезорбции. Позже для этого стали применять современные клапанные шунтирующие системы [1,5,9,16,17].

В клинике нейрохирургии детского возраста «РНХИ им. проф. А. Л. Поленова» усовершенствована и применяется вентрикуло-синустрансверзостомия, при которой избыточный объем цереброспинальной жидкости отводится в доминантный поперечный синус твердой мозговой оболочки [3,4,8,15].

Материалы и методы.

В период 2015-2016 гг. проведено в рамках клинической апробации 50 вентрикулосинусных ликворошунтирующих операций, при которых избыточное количество цереброспинальной жидкости выводилось в поперечный (чаще доминантный) синус твердой мозговой оболочки. Из них 35 операций проведено в детских нейрохирургических отделениях ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова», 14 операций — в нейрохирургическом отделении «СФБМИЦ им. ак. Е. Н. Мешалкина» и 1 операция — в «НИИТО имени Я. Л. Цивьяна» (г. Новосибирск).

Методика обследования больных до и после операции включала оценку степени выраженности гидроцефалии посредством вычисления кефало-вентрикулярных коэффициентов и морфометрии ликворосодержащих полостей, допплерографическое исследование параметров кровотока, в том числе, и в синусах мозга. Характер и выраженность нарушения ликворообращения уточняли при помощи ликвородинамических исследований, которые были направлены на измерение сопротивления резорбции ликвора, скорости ликворопродукции и индекса «давление-объем» — соотношения краниоспинальной системы (PVI) [10,17,18].

Также в большинстве наблюдений для оценки морфофункциональных изменений ликворосодержащих полостей и путей ликвороциркуляции при-

меняли современные методы нейровизуализации (3D-СКТ, СКТ/МРТ-ангиография, высокопольная МРТ). Для оценки особенностей церебро-васкулярного сопряжения осуществляли транскраниальную допплерографию, при необходимости применяли ПЭТ головного мозга с глюкозой, а также КТ/МРТ-перфузионное исследование.

Оценивали результат проведенного вмешательства путем оценки клинических, нейровизуляционных, ликвородинамических исследований, проведенных после операции, подробно анализируя структуру, течение и исход интраоперационных составляющих.

Результаты исследования

Возраст больных колебался от 2 месяцев до 17 лет. Во всех случаях до операции была верифицирована выраженная вентрикуломегалия. Окклюзия ликворных путей была установлена в 22% наблюдений. У всех больных было выявлено повышение внутричерепного давления выше возрастной нормы (PVI>6-12 мм рт. ст.), в 83% случаев отмечался гипертензионный синдром, в 12% случаев имели место клинические и нейровизуализационные признаки гидроцефально-гипертензионно-дислокационного синдрома.

Причинами формирования декомпенсированной гидроцефалии были как окклюзия ликворных путей у 11 больных, так и увеличение сопротивления резорбции ликвора у 42 больных; сочетание гиперсекреции и гипорезорбции ликвора было выявлено лишь в 3 наблюдениях, у 15 больных сочетались 2-3 нарушения ликвородинамики.

Комплексная оценка результатов ТКДГ, ПЭТ и КТ/МРТ-перфузии у этих больных показала, что гипоперфузионные изменения головного мозга в дооперационном периоде были более выражены в зонах смешанного кровообращения.

Проведенные ранее вентрикулоатриостомия и вентрикулоперитонеостомия оказались неэффективными в 31% случаев. На нашем материале лишь в 11% наблюдений вентрикулоперитонеостомия оказалась неэффективным методом, а применение вентрикулоатриостомии при этом было невозможным в связи с особенностями строения яремных вен и\или патологии сердечно-сосудистой системы.

В 24% наблюдений проведение вентрикулоперитонеостомии было признано нецелесообразным на фоне патологии органов брюшной полости или выраженной (более 3,0 г/л) гиперпротеинархеи, а ранее проведенная вентрикулоатриостомия оказалась неэффективной.

Венозное давление в поперечном синусе при его катетеризации колебалось от 6 до 14 мм рт. ст. В 3/4 наблюдениях давление цереброспинальной жидкости значительно (больше 4 мм рт. ст.) превышало венозное. При снижении давления ликвора в желудочке мозга, посредством парциального выведения цереброспинальной жидкости, у 2/3 больных наблюдалось снижение и венозного давления в поперечном синусе. В итоге в большинстве случаев при ликворном давлении в пределах нижних границ возрастной нормы (5-6 мм рт. ст.) венозное давление составляло 4-5 мм рт. ст., и лишь в 1/3 наблюдений венозное давление в этом случае превышало давление ликвора в желудочке (рис. 2,3,4,5,6).

Рисунок 2. СКТ в 3D-реконструкции + синусография (больная С., 5 месяцев): визуализируется правый доминантный поперечный синус

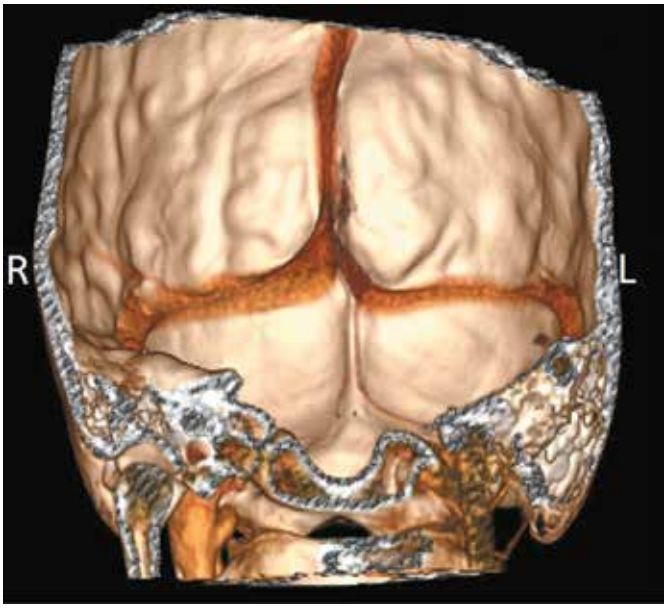


Рисунок 3. Фото ТКДГ (больная С., 5 месяцев). Стрелкой 1 указан лоцированный правый поперечный синус

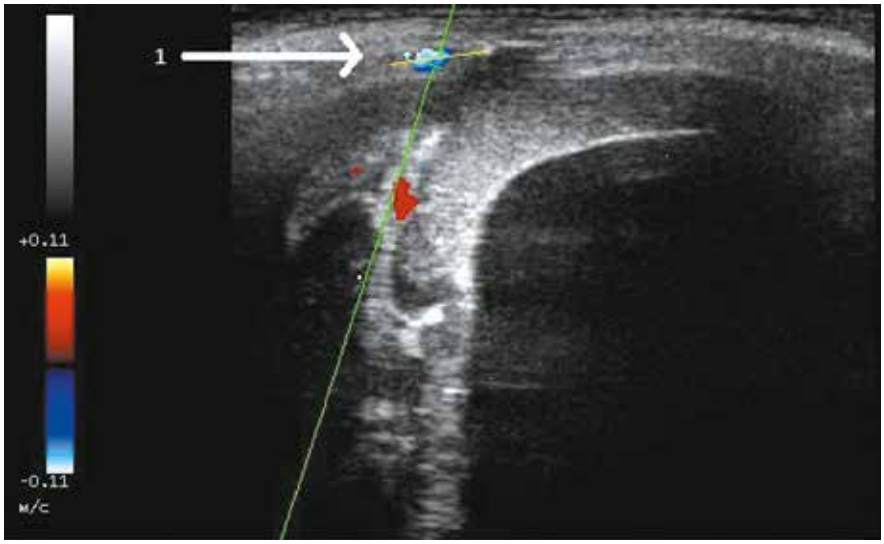
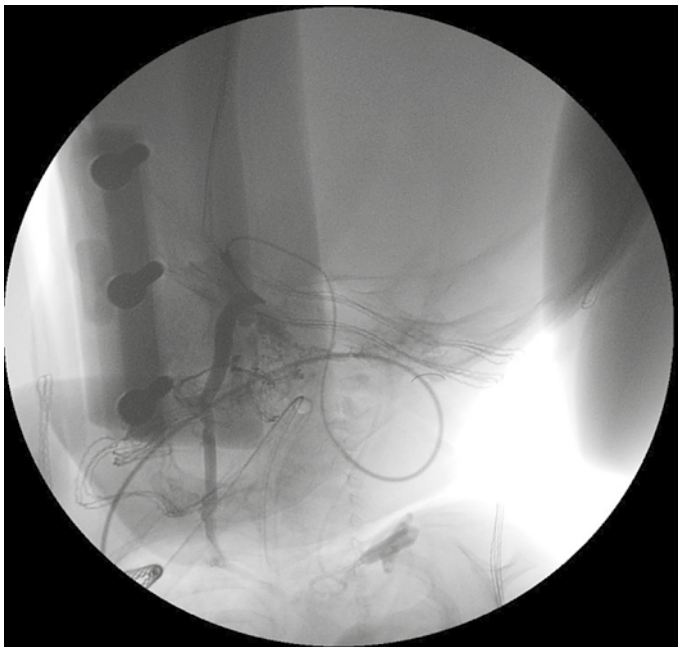


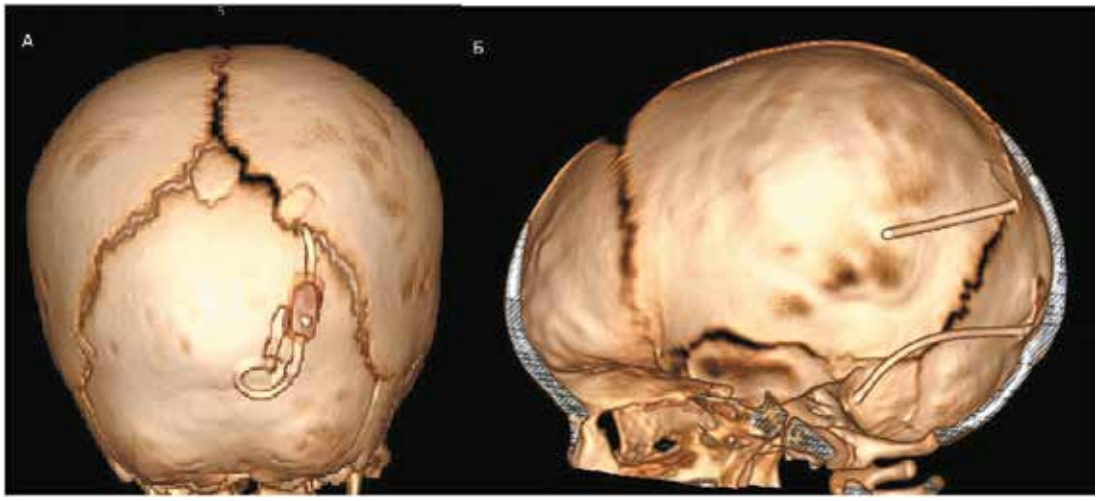
Рисунок 4. Интраоперационная ренген-синусография (больная С., 5 месяцев) («Ультравист 370», 10мл). Локализации синусового катетера в поперечном синусе с контрастным усилением



В итоге у всех больных в раннем постоперационном периоде отмечался регресс клинических, интроскопических (КТ, МРТ, ТКДГ) проявлений гидроцефально-гипертензионного синдрома и стабилизация состояния больных. В 38 наблюдениях из 50 улучшение оказалось стабильным в период всего срока наблюдения. В остальных 12 (24%) случаях отмечено постепенное нарастание проявлений гидроцефалии, при этом манифестация гипертензионного синдрома оказалась более мягкой, чем до операции, а дислокационные проявления отсутствовали. Во всех случаях при этом клинико-нейровизуляционные исследования показали, что дренажная система функционирует. Данный феномен был идентифицирован как гиподренажное состояние. В 5 случаях речь шла о больных, у которых интраоперационный мониторинг ликворного и венозного давлений установил высокий уровень венозного давления при ликворном давлении на уровне ниже возрастных нормальных значений (табл. 1).

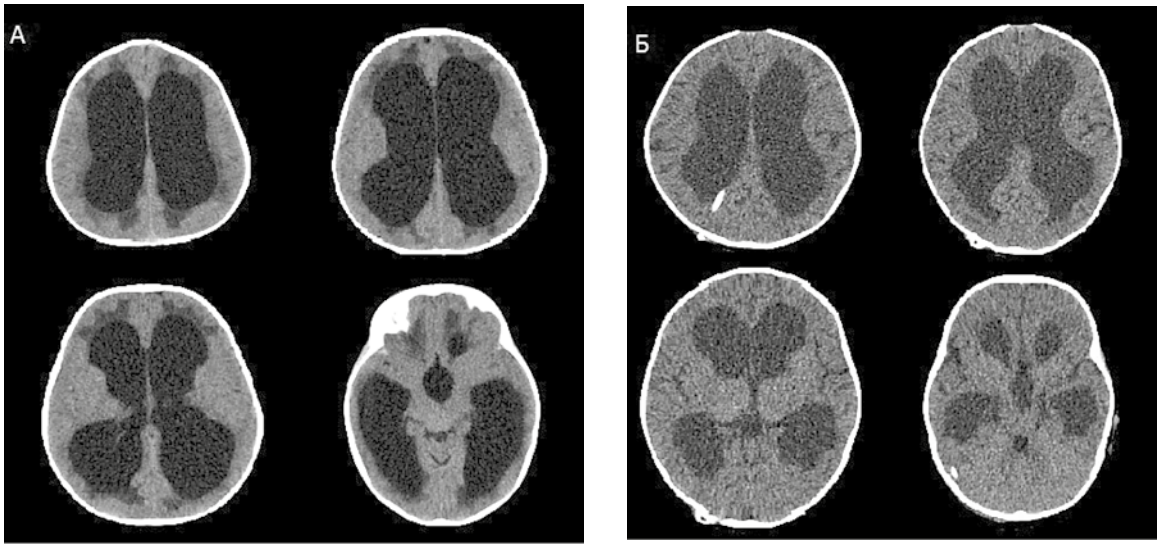
У 7 обследуемых проявления гиподренажного состояния наблюдались в течении первого месяца после операции, у 5 больных — через 1-3 месяца после вмешательства. Раневых и инфекционных осложнений не было. Проявлений тромбозов или

Рисунок 5. СКТ/3D головного мозга после операции (больная С., 5 месяцев)



А — экстракраниальное расположение шунтирующей системы, Б — визуализация вентрикулярного и синусового катетеров

Рисунок 6. СКТ головного мозга, аксиальные срезы (больная С., 5 месяцев)



А — СКТ до операции, Б — СКТ после вентрикуло-синустрансверзостомии

тромбоэмболических осложнений также не отмечено. Признаков коагулопатии за весь период наблюдения не установлено. Отсутствовали также проявления эндокардита, нарушения ритма и проводимости сердца или другие гемодинамические расстройства.

Постоперационный койко-день колебался от 6 до 16 дней.

Обсуждение

Применение вентрикуло-синустрансверзостомии для лечения 50 больных с декомпенсированной гидроцефалией позволило стабилизировать состояние всех больных и достигнуть стабильного контроля гидроцефалии в 38 наблюдениях. Учитывая, что речь идет о случаях, когда использование распространенных методов коррекции гидроцефалии невозможно, применение вентрикуло-синустрансверзостомии становится единственно возможным, а полученные результаты позволяют считать методику эффективной. Верифицированные нами явления согласуются с принципом «параллелизма» между ликворным и венозным давлением, установленным также другими исследованиями [1,5,9,16,17].

За период наблюдения отмечались только гиподренажные осложнения у 24% больных. Имеется основание считать, что этот феномен обусловлен высоким венозным давлением в поперечном

Таблица 1. Частота развития гиподренажного состояния в зависимости от значений венозного и ликворного давлений при нормальных величинах ликворного давления

Исход	Градиент давления ликворного вентрикулярного и синусового венозного давлений		Всего
	$LV_{CSF}P$ — $L_{sin}VP$ =< 30 мм.водн.ст	$LV_{CSF}P$ — $L_{sin}VP$ >= 50 мм.водн.ст	
Гиподренаж	5 (83,3%) (71,4%)	1 (16,7%) (7%)	6 (100%) (27,3%)
Норма	2 (15,5%) (28,6%)	14 (87,5%) (93%)	16 (100%) (72,7%)
Итого	7 (31,8%) (100%)	15 (68,2%) (100%)	22 (100%) (100%)

синусе. Этот фактор имеет большое значение, так как речь идет о безальтернативном методе лечения тяжелого контингента больных.

Ранее нами был установлен факт снижения давления в системе «верхний сагиттальный синус — яремная вена» по ходу кровотока [2,3]. Смещение катетера из поперечного синуса в яремную вену и далее, поэтапная регистрация венозного давления в каждом конкретном участке венозной системы позволяет выбрать локализацию рабочего конца катетера, которая будет правильной для адекватного контроля гидроцефалии.

Сравнение технических аспектов вентрикуло-синустрансверзостомии с другими распространенными ликворошунтирующими операциями показывает, что при данной технике не формируются длинные подкожные туннели, не требуется выделение сосудисто-нервного пучка шеи или вскрытие брюшной полости, что укорачивает длительность вмешательства, возможную кровопотерю и площадь раневой поверхности. Вероятность развития постоперационных инфекционных осложнений также уменьшается. Наряду с этими преимуществами вентрикуло-синустрансверзостомия, несомненно, присутствует и требует учета вероятности синус-тромбоза, несмотря на то, что в нашей группе больных и по данным литературы не выявляются тромбоэмболические осложнения [8,9,16,17].

Предложенный подход, на наш взгляд, может быть перспективным при решении проблемы выбора метода лечения декомпенсированной гидроцефалии, когда выполнение классических ликворошунтирующих операций нецелесообразно и вентрикулосинусные шунтирующие операции становятся безальтернативными.

Выводы

1. Анастомоз между боковым желудочком и поперечным синусом является эффективным и малотравматичным способом хирургического лечения декомпенсированной гидроцефалии.
2. Применение вентрикуло-синустрансверзостомии возможно в тех случаях, когда применение классических ликворошунтирующих операций нецелесообразно и позволяет достигнуть адекватного контроля над декомпенсированной гидроцефалией у 76% больных.
3. Объем, травматичность, длительность и кровопотеря при вентрикуло-синустрансверзостомии меньше, чем при распространенных ликворошунтирующих операциях.
4. После вентрикуло-синустрансверзостомии у 24% больных отмечено развитие гиподренажных состояний, которое обусловлено, в первую очередь, высоким венозным давлением в поперечном синусе.
5. С целью исключения развития гиподренажного состояния измерение давления в венозных синусах является обязательным. В случаях высокого давления в поперечном, сигмовидном синусах и в яремной вене целесообразна установка дистального катетера в правое предсердие.
6. Постоперационные гипердренажные состояния, инфекционные осложнения, тромбозы синусов и развитие эпилептических припадков не отмечались.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Khachatryan WA, Bersnev VP, Safin ShM, Orlov YuA, Trofimova TN. The hydrocephalus. Pathogenesis, diagnosis, surgical treatment. SPb.: Meditsinskoe izdatel'stvo, 1998. p. 234. In Russian [Хачатрян В.А., Берснев В.П., Сафин Ш.М., Орлов Ю.А., Трофимова Т.Н. Гидроцефалия. Патогенез, диагностика, хирургическое лечение. СПб.: Медицинское издательство, 1998. с. 234].
2. Khachatryan WA. The hydrocephalus. Pathogenesis and pathogenetic treatment. Russian Neurosurgical J named after professor A.L. Polenov. 2014; 2: 60–68. In Russian [Хачатрян В.А. Гидроцефалия. Патогенез и патогенетическое лечение. Российский нейрохирургический журнал имени профессора А.Л. Поленова. 2014; 2:60-68].
3. Khachatryan WA, Mojaev SV, Zoloteiko IS. The Dural sinus venous pressure in patients with hydrocephalus. Problems of cerebral blood flow pathology in neurosurgical clinic. 1988; 69-72. In Russian [Хачатрян В.А., Можаев С.В., Золотейко И.О.. Венозное давление в синусах твердой мозговой оболочки у больных гидроцефалией. Вопросы патолого-мозгового кровообращения в нейрохирургическое клинике. 1987; 69-72].
4. Khachatryan WA. Anastamosis between the lateral ventricle and transverse sinus (ventriculo-sinustransversostomy) in the treatment of hydrocephalus. Problems of Pediatric Neurosurgery. 1985; 126-129. In Russian [Хачатрян В.А. Анастамоз между боковым желудочком и поперечным синусом (вентрикуло-синустрансверзостомия) в лечении гидроцефалии. Проблемы детской нейрохирургии. 1985; 126-129].
5. Khachatryan WA, Bersnev VP, Olyushin VE. Ventriculo-sinustransversostomy. Guidelines. SPb.: 1992. p. 9. In Russian [Хачатрян В.А., Берснев В.П., Олюшин В.Е. Вентрикуло-синустрансверзостомия. Методические рекомендации. СПб. 1992. с. 9].
6. Bersnev V, Khachatryan W, Oliushin V. The treatment of hydrocephalus by ventriculo-sinustransversostomy. J. Problems of Neurosurgery named after N.N. Burdenko. 1989; 4:17–19.
7. Cushing H. The cerebral envelopes. Surgery: its principles and practice. 1989; 3:111.
8. Joung HL, Park T. Ventriculo-atrial shunt via the transverse sinus for hydrocephalus. Abst. Meeting of American Association of Neurological surgeon. 1990; s.386.
9. Khachatryan W. Ventriculo-sinus operations in the treatment of hydrocephalus (critical analysis and results). S.I. Jahrestagu der deutschen Gesellschaftfür Neurochirurgie. 2000; s.49.
10. Mathews G, Osterholm J. Ventriculosagittal sinus shunting in adult hydrocephalus. Congr. Neurol Surg. Exp. Med. 1973; s.135.
11. Pieri A, Cantini R. Shunting in the transverse sinus: the ultimate site of shunting in hydrocephalus. 12th European Congress of Neurosorgery. 2003; s.76.
12. Pudenz R. The surgical treatment of hydrocephalus — an historical review. Surg. Neurol. 1981; 5:15–27.
13. Pudenz R. The ventriculo-atrial shunt. J. Neurosurg. 1966; 25:602–608.
14. Sainte-Rose Ch., Hooven M., Hirsch J. A new approach in the treatment of hydrocephalus. J. Neurosurg. 1987; 66:213–226.
15. Toma A., Tarnairis A., Kitchen N. Ventriculo-sinus shunt. Neurosurg. Rev. 2010; 33(2):147–152.
16. Khachatryan W. Ventriculo-Sinus transversal shunt in the treatment of hydrocephalus. Pediatric neurosurgery and neurology. 2015; 43:70-79.
17. Ransohoff J, Shulman K, Fishman R. Hydrocephalus: A review of etiology and treatment. J Pediatr 1960; 56:499-511.
18. Sainte-Rouse Ch. Intracranial venous sinus hypertension, cause of consequence of hydrocephalus in infants. J neurosurg. 1984; 60:727-736.

Информация об авторах:

Хачатрян Вильям Арамович, доктор медицинских наук, профессор, нейрохирург высшей категории, руководитель отделения нейрохирургии детского возраста ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Самочерных Константин Александрович, кандидат медицинских наук, нейрохирург высшей категории, заведующий отделением нейрохирургии №2 для детей «РНХИ им. проф. А. Л. Поленова»;

Ким Александр Вонгиевич, кандидат медицинских наук, нейрохирург высшей категории, заведующий детским нейрохирургическим отделением №7 ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Николаенко Михаил Сергеевич, врач-нейрохирург отделения нейрохирургии №2 для детей «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова»;

Сысоев Кирилл Владимирович, врач-нейрохирург отделения нейрохирургии №2 для детей «РНХИ им. проф. А. Л. Поленова»;

Дон Олег Анатольевич, врач-нейрохирург детского нейрохирургического отделения №7 ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Шаповалов Александр Сергеевич, врач-нейрохирург детского нейрохирургического отделения №7 ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Абрамов Константин Борисович, аспирант, врач-нейрохирург отделения нейрохирургии №2 для детей «РНХИ им. проф. А. Л. Поленова»;

Иванов Вадим Петрович, аспирант, врач-нейрохирург детского нейрохирургического отделения №7 ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Кобозев Вячеслав Витальевич, кандидат медицинских наук, нейрохирург высшей категории, врач-нейрохирург нейрохирургического отделения ФГБУ

«Сибирский федеральный биомедицинский исследовательский центр имени академика Е. Н. Мешалкина».

Author information:

William A. Khachatryan, MD, professor, neurosurgeon of the highest category, head of the Department of pediatric neurosurgery, Federal Almazov North-West Medical Research Centre;

Konstantin A. Samochernyh, PhD, neurosurgeon of the highest category, head of the Department of pediatric neurosurgery №2, Polenov Russian Scienific Research Institute of Neurosurgery;

Alexander V. Kim, PhD, neurosurgeon of the highest category, head of the Department of pediatric neurosurgery №7, Federal Almazov North-West Medical Research Centre;

Mikhail S. Nikolaenko, neurosurgeon of the Department of pediatric neurosurgery №2, Polenov Russian Scienific Research Institute of Neurosurgery;

Kirill V. Sysoev, neurosurgeon of the Department of pediatric neurosurgery №2, Polenov Russian Scienific Research Institute of Neurosurgery;

Oleg A. Don, neurosurgeon of the Department of pediatric neurosurgery №7, Federal Almazov North-West Medical Research Centre;

Aleksandr S. Shapovalov, neurosurgeon of the Department of pediatric neurosurgery №7, Federal Almazov North-West Medical Research Centre;

Konstantin B. Abramov, postgraduate student, neurosurgeon of the Department of pediatric neurosurgery №2, Polenov Russian Scienific Research Institute of Neurosurgery;

Vadim P. Ivanov, postgraduate student, neurosurgeon of the Department os pediatric neurosurgery №7, Federal Almazov North-West Medical Research Centre;

Vyacheslav V. Kobozev, PhD, neurosurgeon of the highest category, neurosurgeon of the neurosurgery Department, Meshalkin Siberian Federal biomedical research centre.

ISSN 2311-4495
ISSN 2410-5155 (Online)
УДК 57.089.002.3

ПОДХОДЫ К ТЕСТИРОВАНИЮ БИОМАТЕРИАЛОВ С ПОЗИЦИИ СОВРЕМЕННОЙ ПАРАДИГМЫ БИОСОВМЕСТИМОСТИ

Викнянщук А.Н.[1], Мишанин А.И.[2], Твердохлебов С.И.[3], Головкин А.С.[2]

[1] Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
[2] Федеральное государственное бюджетное учреждение «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия
[3] Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», Томск, Россия

Контактная информация:
Головкин Алексей Сергеевич
ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Россия, 197341.
E-mail: golovkin_a@mail.ru

Статья поступила в редакцию 09.02.2017 и принята к печати 16.04.2017 .

Резюме

С современных позиций биосовместимость представляет собой характеристику всей системы «тканеинженерный трансплантат — организм реципиента», адекватное прогнозируемое функционирование которой определяется в равной степени всеми входящими в ее состав компонентами (организм реципиента, материал, клетки). При этом сам материал, безусловно, влияет на феномен биосовместимости, однако он тесно связан с функциональными характеристиками организма реципиента, его клеток и тканей. Биоматериалы, из которых изготавливают трансплантаты, не должны быть токсичными, иммуногенными и тромбогенными. Однако условия, в которые попадает трансплантат в организме, также могут повлиять на успешность и полноту выполнения изделием желаемой функции. В связи с этим большое значение имеет предварительное тестирование цитотоксичности используемых материалов, а также оценка их влияния на функциональную активность различных типов клеток. В обзоре рассмотрены основные методы, применяемые на данный момент для оценки влияния биоматериалов на жизнеспособность, адгезию и миграцию клеток in vitro, а также индукцию окислительного стресса и воспаления.

Ключевые слова: биосовместимость, тестирование in vitro, биоматериалы, трансплантология, цитотоксичность, клеточная адгезия.

Для цитирования: Трансляционная медицина. 2017; 4 (1): 29–40.

APPROACHES TO BIOMATERIALS TESTING ACCORDING TO MODERN BIOCOMPATIBILITY PARADIGM

Viknianshchuk A.N.[1], Mishanin A.I.[2], Tverdokhlebov S.I.[3], Golovkin A.S.[2]

[1] Saint Petersburg University, Saint Petersburg, Russia
[2] Federal Almazov North-West Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia
[3] National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia

Corresponding author:
Alexey S. Golovkin
Federal Almazov North-West Medical Research Centre
Akkuratova str. 2, Saint Petersburg, Russia, 197341
E-mail: golovkin_a@mail.ru

Received 09 February 2017; accepted 16 April 2017.

Abstract

From the modern perspectives biocompatibility is a feature of the whole system «tissue engineered graft — recipient's body». Adequate and predictable performance of this system is determined by all its components (recipient's body, material, cells) to the same extent. Biomaterials for tissue engineered grafts shouldn't be toxic, immunogenic and thrombogenic. At the same time, the efficiency of graft depends on the functional state of recipient's body, tissues and cells. In this case studies of the influence of biomaterials on the viability and functional activity of different cell types become crucial. This review focuses on common modern approaches to in vitro assessment of the viability, adhesion, migration and induction of oxidative stress and inflammatory potential of different types of cells in response to the contact with biomaterials.

Key words: Biocompatibility, in vitro testing, biomaterials, transplantology, cytotoxicity, adhesion.

For citation: Translyatsionnaya meditsina= Translational Medicine. 2017; 4 (1): 29–40.

Список сокращений

ПЦР — полимеразная цепная реакция, AnnV-FITC — аннексин-V, меченный изотиоцианатом флуоресцеина, PI — йодид пропидия

Современная парадигма биосовместимости

Представления о биосовместимости материалов и требованиях, к ним предъявляемых, менялись в разные периоды разработки и применения различных изделий медицинского назначения. Изначальные требования к материалам, длительно присутствующим в организме пациента и выполняющим определенные функции, заключались в непричинении вреда здоровью, и формулировались в определенном перечне ограничений. В частности, они должны были быть нетоксичными, неиммуногенными, нетромбогенными, неонкогенными, не вызывающими раздражения и т.д.

Однако постепенно такой подход менялся. К тому имелось три основных предпосылки. Во-первых, стало очевидным, что реакция на определенные материалы может быть различной в зависимости от того, в каких изделиях они будут применяться. В таком случае биосовместимость не может полностью зависеть только от характеристики материала, но будет напрямую связана с той ситуацией, в которой материал используется. Во-вторых, увеличивалось количество изделий, в которых материал должен был специфически реагировать с тканями, а не быть игнорированным ими (как это происходило с инертными материалами). Наконец, некоторые трансплантаты должны были со временем деградировать в организме, а не оставаться абсолютно стабильными на неопределенный срок [1, 2].

В результате в 1987 году было сформулировано определение биосовместимости как способности

материала в специфической ситуации выполнять необходимую функцию в условиях соответствующего ответа организма хозяина [2]. Это определение было основано на трех принципах:

1) Материал должен выполнять определенную функцию, а не просто существовать в тканях;

2) Ответ, который он вызывает, должен быть подходящим для применения этого материала;

3) Характер ответа на конкретный материал, а также его уместность могут изменяться в различных ситуациях.

Исходя из этой парадигмы, становится очевидным взаимодействие двух основных компонентов: реципиента и, собственно, материала. При этом в отношении реактивности организма пациента значимыми могут оказаться такие характеристики, как пол, возраст, основное и сопутствующие заболевания, физическая активность и ее особенности, прием лекарственных препаратов и т.д. Таким образом, каждый пациент будет иметь свои особенности, которые могут оказаться немодифицируемыми или трудно модифицируемыми, в то время как характеристики и свойства материала подлежат модификации, совершенствованию, тестированию и стандартизации [2, 3, 4].

К основным характеристикам материала, которые могут повлиять на ответ организма, относятся [2]:

1) состав материала, микро- (или нано-) структура, морфология;

2) кристалличность и кристаллография;

3) константы упругости;

4) массовая доля воды, гидрофобный-гидрофильный баланс;

5) макро-, микро-, нанопористость;

6) химический состав поверхности, химические градиенты, поверхностная подвижность молекул;

7) рельеф поверхности;

8) энергия поверхности;

9) электрические/электронные свойства поверхности;

10) параметры коррозии, профиль высвобождения ионов, токсичность ионов металла (для металлических материалов);

11) профиль деградации, форма продуктов деградации и токсичность (для полимерных материалов);

12) продукты отмывки, добавки, катализаторы, загрязняющие примеси и их токсичность (для полимерных материалов);

13) профиль растворения/деградации, токсичность продуктов деградации (для керамических материалов);

14) профиль высвобождаемых при деградации частиц.

К основным характеристикам общей реакции организма хозяина на биоматериалы относятся:

1) характеристики адсорбции и десорбции белка;

2) генерализованные цитотоксические эффекты;

3) активация нейтрофилов;

4) активация макрофагов, образование гигантских клеток инородного тела, формирование грануляционной ткани;

Рисунок 1.

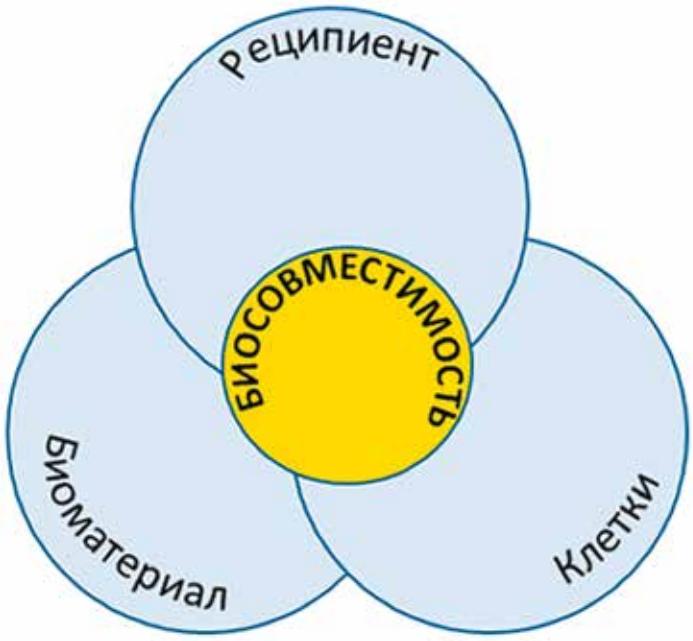


Рисунок 2.

5) фиброз и активность фибробластов;
6) микрососудистые изменения;
7) ткане/органоспецифический клеточный ответ (например, остеокластов и остеобластов для кости, эндотелиальной пролиферации);
8) активация каскада свертывания;
9) адгезия, активация, агрегация тромбоцитов;
10) активация комплемента;
11) продукция антител, реакции иммунных клеток;
12) острая гиперчувствительность/анафилаксия;
13) аллергическая реакция замедленного типа;
14) мутагенные реакции, генотоксичность;
15) репродуктивная токсичность;
16) онкогенез.

В настоящее время все шире используются изделия с длительным периодом функционирования в организме человека. При этом зачастую эксплантация не производится, либо используются биоматериалы, способные деградировать в организме. Биосовместимость имплантируемого на длительный срок медицинского устройства характеризуется его способностью выполнять свои функции с требуемой степенью инкорпорирования в организм реципиента, при этом не вызывая нежелательных местных или системных эффектов у пациента. При этом очевидно, что безопасность материала выступает на первый план [5, 6]. К одной из разновидностей такого рода изделий можно отнести скаффолды для тканевой инженерии. Целью тканевой инженерии является создание in vitro функциональных тканевых компонентов, имплантация которых в организм реципиента приводила бы к регенерации поврежденных или утративших свою функцию тканей и органов за счет преднамеренной и контролируемой стимуляции выбранных клеток-мишеней, опосредованной механизмами молекулярного сигналинга и механотрансдукции. При этом предполагается, что организм излечивает себя сам за счет доставки в необходимую область молекулярных сигналов, клеток и/или поддерживающих конструкций. Средствами адресной доставки этих клеток оказываются скаффолды, которые, в свою очередь, могут служить в качестве матрицы, на которой происходит трансформация клеток в тканевом направлении с формированием определенной конструкции [7].

В такой ситуации биосовместимость матрицы для тканевой инженерии определяется ее способностью выполнять функции субстрата, поддерживающего определенную клеточную активность. В частности, биоматериал должен облегчать передачу молекулярных и механических сигналов с целью оптимизации тканевой регенерации, не вызывая нежелательных местных или системных эффектов [2, 8–10].

Таким образом, существующие на сегодняшний день подходы не позволяют трактовать понятие биосовместимости исключительно как свойство материала/изделия. С современных позиций биосовместимость представляет собой характеристику всей системы, адекватное прогнозируемое функционирование которой определяется в равной степени всеми входящими в ее состав компонентами (организм реципиента, материал, клетки) (рисунок 1).

На данный момент в мире разработано множество методик, направленных на оценку параметров, характеризующих биосовместимость материалов медицинского назначения как in vitro, так и in vivo (рисунок 2) [11, 12]. Однако использование животных моделей для рутинной оценки токсичности и биосовместимости материалов в настоящее время имеет большое количество ограничений. Это связано с существующим в разных странах лимитирующим законодательством, этическими нормами, высокой стоимостью таких исследований, усложненной стандартизацией условий проведения, большой длительностью тестирования. В связи с этим в последнее время все больше исследований по оценке цитотоксичности проводится на моделях in vitro. При этом для одобрения какого-либо метода тестирования in vitro как альтернативы проведения исследования in vivo должны быть подтверждены лишь два аспекта — надежность и актуальность. Надежность основана на воспроизводимости результатов внутри и между лабораториями, а так же с течением времени. Актуальность относится к научной значимости и полезности результатов по сравнению с альтернативным методом применительно к конкретной ситуации [13, 14].

Параметры биосовместимости, оцениваемые в тестах in vitro

Цитотоксичность материала и жизнеспособность клеток

Еще в конце двадцатого века были описаны основные методики оценки цитотоксичности [15–17], а также опубликованы стандарты по их использованию, такие как, например, Американского общества по испытанию материалов (American Society for Testing and Materials — ASTM) [18] и Международной организации по стандартизации (International Standards Organization — ISO) [19]. Принято считать, что цитотоксичность, определяемая как свойство химических веществ оказывать токсическое действие на клетки, затрагивает различные аспекты клеточной функции, такие как жизнеспособность, пролиферация, адгезия, биосинтетическая активность и морфология клетки. Изучение данных характеристик при культивировании клеток in vitro позволяет проводить оценку токсикологических рисков использования тестируемого материала [20].

Методики тестирования материала могут подбираться в зависимости от структурных характеристик материала и от конкретной задачи. В случае использования прямых контактных методов клетки могут быть посеяны непосредственно на материал [21] или, наоборот, образец тестируемого материала может быть помещен на центр субконфлюэнтного монослоя выбранной клеточной линии [22].

Тесты, основанные на непрямом контактном методе, могут быть проведены путем разделения исследуемого материала и клеток посредством диффузионного барьера, в роли которого может выступать слой агара. В качестве альтернативы возможно внесение экстракта испытуемого материала, приготовленного с использованием культуральной среды, в культуру клеток, уже сформировавших монослой [23]. В случае, если полимеры могут быть растворены в воде или в солевых растворах, становится возможным использовать различные концентрации материала на монослое культуры клеток. После соответствующего времени инкубации (24-72 часа) проводится количественная оценка результатов культивирования клеток с исследуемыми концентрациями полимеров, что позволяет определить концентрацию, при которой наблюдается 50% погибших клеток в сравнении с контролем [24]. Этот тест позволяет проводить качественную и количественную оценку цитотоксичности, которая может быть подтверждена с использованием различных методов.

Качественную оценку связанных с цитотоксичностью морфологических изменений, таких как откреплление клеток, округление, формирование гранул, уменьшение размера клеточного ядра и фрагментация цитоплазмы, обычно проводят путем исследования культуры живых клеток или фиксированных окрашенных клеток под инвертированным микроскопом. Более глубокое понимание морфологических изменений клеток в ответ на контакт с биоматериалом может быть получено при использовании флуоресцентной и конфокальной лазерной микроскопии при окрашивании клеточного цитоскелета или ядра. Кроме того, в дальнейшем могут быть использованы сканирующая и трансмиссионная электронная микроскопия.

Несмотря на то, что сканирующая электронная микроскопия является достаточно информативным методом, позволяющим оценивать клеточные взаимодействия и топографию материала, она оказывается трудоемкой и затратной по времени, особенно для количественного подсчета клеток. С другой стороны, флуоресцентная ми-

кроскопия, которая позволяет визуализировать специфическое окрашивание определенных клеточных структур (например, клеточного ядра или микрофиламентов), может быть легко адаптирована для количественных исследований. Для этого необходимо оценить случайным образом выбранные или подготовленные изображения и провести количественный подсчет специфически флуоресцентно меченых событий на определенной стандартной площади образца. Метод позволяет провести подсчет клеток (по количеству ядер), оценку площади, занимаемой клетками (по распределению в цитоплазме филаментных красителей или при использовании мембранных красителей), а также оценить количество клеточных событий/структур (фокальная адгезия, клеточные адгезионные контакты, апоптотические/некротические клетки и т.д.) [25].

Ключевым показателем в оценке цитотоксичности является количественная оценка живых клеток, а также определение соотношения количества живых клеток к погибшим. Количественная оценка жизнеспособности клеток может проводиться с использованием витальных клеточных красителей. Эти тесты основаны на способности живых клеток поглощать и сохранять определенные красители. Количество красителя может быть измерено спектрофотометрически с последующим наложением результатов на стандартную калибровочную кривую, построенную для живых клеток [23].

Одним из самых простых и удобных методов является использование флуоресцентного красителя PKH, окрашивающего мембраны клеток. Длительный период полураспада (более 100 суток) позволяет использовать его для оценки пролиферации, а также в ряде тестов in vivo. Выбор красителя необходимо осуществлять с учетом непосредственной задачи, которую решает исследователь, принимая во внимание тропность красителя не только к мембранам клеток, но и к материалу.

Биохимические колориметрические исследования могут давать очень ценную информацию о количестве адгезировавшихся клеток на исследуемой поверхности, в то же время, предоставляя такие доказательства жизнеспособности клеток, как активность митохондрий, целостность мембран, окислительный стресс и т.д. Вместе с тем использование только этих методов предполагает, что:

1) материал специфично не влияет на принцип работы выбранного метода оценки жизнеспособности (например, митохондриальную активность в МТТ-тесте);

2) материал неспецифически не взаимодействует с реагентами или продуктами используемого теста.

Кроме того, с осторожностью нужно трактовать результаты тестирования материалов, модификация которых направлена на изменение метаболизма клеток, так как могут быть получены ложные результаты уровня адгезии. Для предотвращения таких ситуаций рекомендуется использовать одновременно несколько методов, оценивающих одну и ту же характеристику материала [25].

Культивирование на материале может приводить к снижению пролиферативной активности клеток по сравнению с физиологическими условиями. В такой ситуации оценка пролиферативной активности клеток оказывается очень важным тестом для описания биосовместимых свойств биоматериала. При оценке пролиферации клеток после культивирования на материале можно использовать следующие методы [26]:

1) ДНК-микрочипирование для оценки экспрессии генов (для этого проводят выделение мРНК из клеток после 30 часов культивирования на материале);

2)полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени;

3) иммунофлуоресценция.

Апоптоз/некроз

Количество клеток, вступивших в апоптоз или погибших после контакта с биоматериалом, является одним из основных критериев оценки цитотоксичности. Визуализация клеток возможна как посредством различных видов микроскопии, так и с помощью проточной лазерной цитометрии суспензии клеток, снятых с поверхности образца [27].

Одним из универсальных методов исследования апоптоза является анализ липидного состава плазматической мембраны клеток [27]. Запуск апоптоза, сопровождающийся снижением концентрации АТФ внутри клетки, вызывает изменения в работе широкого спектра внутриклеточных ферментов, что сказывается на нарушении асимметрии клеточной мембраны апоптотирующей клетки [28]. В поверхностном слое мембраны апоптотичеких клеток в большем, по сравнению с живыми клетками, количестве появляются молекулы фосфатидилсерина.

Для исследования асимметрии мембраны апоптозирующих клеток, а именно для выявления фосфотидилсерина, используют конъюгаты аннексина V с различными флуорохромами. В присутствии ионов кальция этот белок способен взаимодействовать с отрицательно заряженными фосфолипидами, при этом он обладает очень высоким сродством к фосфатидилсерину (константа диссоциации около $5 \cdot 10^{-10}$). В настоящее время наиболее распростра-

ненным и широко применяемым методом исследования апоптоза является окрашивание клеток при помощи аннексина V, меченного FITC (AnnV-FITC), и красителей ДНК (например, йодистого пропидия (PI) или 7-аминоактиномицина D (7-AAD)).

Принцип этого метода заключается в следующем. На ранней стадии апоптоза молекулы фосфотидилсерина появляются на поверхности клеток, что делает их доступными для взаимодействия AnnV-FITC. Потеря мембранной асимметрии в динамике развития апоптоза по времени совпадает с запуском конденсации хроматина и фрагментации ДНК. Однако целостность и непроницаемость для ДНК-связывающих красителей клеточной мембраны еще сохраняется, поэтому на гистограммах флуоресценции клетки, находящиеся на ранних стадиях апоптоза, будут характеризоваться как позитивные по AnnV-FITC и негативные по PI (AnnV-FITC+PI–). На поздней стадии апоптоза клеточная и ядерная мембраны теряют свою целостность и становятся проницаемыми для ДНК-связывающих красителей, поэтому клетки в поздней фазе апоптоза или уже погибшие будут позитивны по обоим красителям (AnnV-FITC+PI+). Такими же характеристиками флуоресценции могут обладать и некротические клетки, поскольку имеют разрушенную мембрану, в результате чего AnnV-FITC и PI свободно проникают в клетки и взаимодействуют со своими лигандами. Кроме того, некротические клетки могут не окраситься AnnV-FITC за счет разрушения цитоплазматической мембраны, но быть позитивными при окраске PI (AnnV-FITC–PI+) [27].

Следующий метод может быть использован в качестве скрининг-метода (быстрого в постановке и недорогого). Метод основан на одновременном применении двух флуоресцентных красителей — йодида YO-PRO-1 и PI [29]. Отличительной особенностью этих веществ, помимо небольшой молекулярной массы (629,3 и 668,4 Да, соответственно), является способность стехиометрическим образом связываться с нуклеиновыми кислотами клетки. Подобного рода взаимодействия сопровождаются накоплением красителей в цитоплазме (после взаимодействия с РНК) и в ядре (после взаимодействия с ДНК) клетки и, как следствие, изменением флуоресценции после возбуждения источником света с длиной волны 488 нм. Максимум эмиссии YO-PRO-1 приходится на зеленую часть спектра (около 509 нм), а PI — на красную (около 617 нм). Однако существенное различие между данными красителями заключается в способности проникать в клетки, билипидный слой мембраны которых для них является непроницаемым.

За накопление YO-PRO-1 внутри цитоплазмы отвечают P2RX7 лиганд-зависимые ионные каналы, относящиеся к семейству пуринорецепторов [30, 31]. В живых клетках накопления YO-PRO-1 не происходит, так как эти каналы не активны или обладают невысокой способностью транспортировать краситель через мембрану. Однако их активация происходит при запуске апоптоза и по времени совпадает с нарушением асимметрии липидного состава поверхностной мембраны, что позволяет рассматривать накопление YO-PRO-1 в клетке в качестве события, характерного для «ранних» стадий апоптоза. Йодистый пропидий не имеет каких-либо интегрированных в мембрану специфических переносчиков и может проникать в цитоплазму и ядро только через поврежденные/фрагментированные мембраны, что обычно имеет место на финальных стадиях апоптоза при формировании апоптотических телец или при некрозе клеток. Таким образом, живые клетки в образце не будут окрашиваться ни одним из упомянутых выше красителей. Клетки, вступившие в апоптоз, будут позитивны только по YO-PRO-1, тогда как клетки, находящиеся на более поздних стадиях апоптоза, будут эффективно окрашиваться обоими красителями.

Клеточная адгезия

После того, как цитотоксичность материала исключена, можно переходить к сокультивированию клеток с материалом и последующей оценке адгезии. Естественно, в зависимости от природы и функции материалов, адгезия клеток на поверхности может быть и нежелательным эффектом. В любом случае, клеточная адгезия является предпосылкой для оценки любых дальнейших клеточных функций, таких как экспансия, пролиферация, миграция и биосинтетическая деятельность [20].

Хорошо известно, что характеристики поверхности материала, такие как химизм, смачиваемость, энергия поверхности и топография, играют ключевую роль в клеточной адгезии [32–34]. Количественно клеточная адгезия может быть оценена посредством исследования изображений, полученных после проведения световой и сканирующей электронной микроскопии. В качестве альтернативы могут применяться методы спектрофотометрического анализа, подобные тем, что используются при оценке цитотоксичности.

Известен подход, позволяющий оценивать не только количество адгезировавшихся на поверхности материала клеток, но и силу сцепления. Для этого проводят подсчет сошедших клеток после трипсинизации поверхности через 5 и 20 минут после обработки ферментом. Предполагается, что получаемый в таких условиях результат указывает на большую адекватность для измерения прочности

Таблица 1. Методы оценки мутагенности in vitro

Феномен	Метод
Генные мутации	Тест Эймса/ Тест E.coli Генные мутации в клеточных культурах млекопитающих
Повреждения хромосом	Митотические анеуплоидии в дрожжах Анализ метафаз культур клеток млекопитающих Тест микроядер
Повреждения ДНК	Митотическая конверсия гена (дрожжи) Обмен хроматидами Электрофорез единичных клеток

крепления, чем общий уровень адгезивных клеток [25]. При этом авторы утверждают, что результат трипсинизации должен быть представлен в виде кривой время/концентрация, чтобы получить сопоставимые и надежные результаты. Этот метод можно отнести к так называемым «механическим» методам оценки адгезии, так как он основан на определении силы сцепления клеток с поверхностью [35].

В последнее время были предложены новые методы для количественного определения биосовместимости материалов с точки зрения клеточной адгезии. В частности, была предложена методология in situ наблюдения за клетками, адгезированными на непрозрачных поверхностях [36]. Метод основан на использовании иммунных реакций в сочетании с флуоресцентным агентом и позволяет осуществлять непосредственное изучение клетки на месте адгезии.

Изменения морфологии клеток после адгезии на материалах можно изучать при помощи различных оптических методов: микроскопии фазового контраста, автоэмиссионной электронной микроскопии, конфокальной микроскопии.

В настоящее время считается уже недостаточной простая констатация факта высокой или низкой адгезии клеток на поверхности тестируемого материала. Используя парадигму тканевой инженерии, по которой биоматериал является активным участником процесса регенерации и может сам по себе участвовать в таких процессах, как управление дифференцировкой клеток, пролиферацией и т.д., становится очевидной целесообразность изучения механизмов адгезии клеток на материале. Для этого проводится оценка экспрессии белков цитоскелета и адгезии, таких как винкулин, талин и актин путем иммуноцитохимического окрашивания клеток с предварительной фиксацией и пермеабилизацией. По интенсивности флуоресценции оценивается количество внутриклеточного белка [37]. Закономерно меняется и экспрессия генов, кодирующих эти белки, — параметр, который также подлежит оценке.

Следует отметить, что определение содержания винкулина в клетке является одним из наиболее надежных методов оценки адгезии. Дело в том, что цитоплазматическая фракция винкулина, не связанного с другими белками, вымывается из клеток при обработке детергентом Triton X-100 до проведения процедуры фиксации. Таким образом, при дальнейшем иммуноцитохимическом окрашивании выявится только та фракция винкулина, которая ассоциирована с сайтами фокальной адгезии. Чувствительность метода может быть увеличена путем мечения антител к винкулину частицами коллоидного золота и их последующей визуализации при помощи автоэлектронной микроскопии с детектором обратно рассеянных электронов [35]. Вне сомнения, при выборе конкретного метода оценки адгезии клеток на материале стоит иметь ввиду топографию и другие свойства материала, такие как, например, степень прозрачности (в случае визуализации взаимодействия «клетка-материал» с помощью световой микроскопии).

Генотоксичность

Биоматериалы более не рассматриваются как инертные, биологически неактивные вещества. Наоборот, биологическая активность, которой они обладают, играет ключевую роль в их применении. С этих позиций тщательного исследования требует изучение влияния используемых материалов на регуляцию клеточного цикла.

Материал трактуется как мутагенный, если он индуцирует первичные повреждения ДНК, которые обычно восстанавливаются ферментами репарации ДНК. Иногда, когда этих систем не хватает, они несовершенны или перегружены, повреждение сохраняется в ДНК, передается в клетки-предшественники и трансформируется в мутации. Панель методов оценки мутагенности материалов представ-

лена в стандарте ISO 10993-3 [38, 39] и приведена в таблице [1].

Принципиально тесты на мутагенность заключаются в следующем: материал или исследуемый агент контактируют с клетками в течение определенного промежутка времени, после которого оцениваются различные, связанные с генами характеристики, в сравнении с положительным (известные генотоксичные агенты) и отрицательным контролями [20]. In vitro тесты могут быть классифицированы по использованию прокариотических и эукариотических организмов. Отдельные тесты созданы для детектирования мутаций в соматических и зародышевых клетках.

В 1950-е годы стало понятно, что метаболизм инородных компонентов может играть важную роль в канцерогенезе. Как полагают, опухолевый процесс при этом индуцируется химическими агентами, которые превращаются в реакционноспособные электрофильные вещества, способные взаимодействовать с белками и нуклеиновыми кислотами. Поэтому при выборе метода оценки мутагенного потенциала необходимо учитывать химические вещества (компоненты или продукты разрушения), которые могут повреждать ДНК самостоятельно или становятся мутагенными после превращения в реакционноспособные соединения.

Развитие таких технологий, как геномный, транскриптомный или протеомный анализ, позволяет оценивать экспрессию генов на ином уровне и, соответственно, проводить тестирование материалов и экстрактов [40, 41] более глобально. Уровень активности генов может изучаться с использованием нозерн-блота, гибридизации in situ или ПЦР. Может быть использован и более современный метод микроанализа, при котором выделенная РНК сначала конвертируется в кДНК или кРНК, а потом измеряется уровень гибридизации на микрочипах.

Протеомный анализ позволяет оценивать активность трансляции различных белков. Целью такого анализа является определение физиологической или значимой патологической продукции белков [42]. Изучение активации онкогенеза и утраты продуктов генов-онкосупрессоров может быть крайне полезным для in vitro тестирования канцерогенного потенциала биоматериалов [15].

Окислительный стресс

Ионы металлов, а также индуцируемые ими свободные радикалы — активные формы кислорода могут стать причинами окислительного стресса в клетках при культивировании на материале. Для оценки окислительного стресса после культивирования на материале можно использовать следующие методы [26]:

1) ДНК-микрочипирование для оценки экспрессии генов супероксиддисмутазы, глутатион пероксидазы, глутатион-S-редуктазы, белков теплового шока, гемоксигеназы-1;

2) оценка активности супероксиддисмутазы (увеличение свидетельствует об окислительном стрессе), количества глутатиона (снижение свидетельствует об окислительном стрессе), образования свободных радикалов (увеличение свидетельствует об окислительном стрессе);

3) оценка уровня гемоксигеназы методом иммуноферментного анализа (увеличение свидетельствует об окислительном стрессе), детекция нитротирозина (маркера NO-зависимого оксидативного стресса).

Одним из механизмов немедленного ответа организма на чужеродный материал является респираторный взрыв макрофагов, в результате которого продуцируется большое количество свободных радикалов, таких как супероксидный анион-радикал ($O2^-$). В запуске этого процесса участвует фермент NADPH-оксидаза, каталитические субъединицы которого представлены белками gp91phox, p22phox, p47phox, p67phox и малым G-белком Rac1. Активность фермента может свидетельствовать об интенсивности респираторного взрыва макрофагов и оценивается по экспрессии генов субъединиц p22phox, p47phox, p67phox и gp91phox методом ПЦР в реальном времени после культивирования клеток на материале, а также методом вестерн-блоттинга (субъединицы p22phox и p47phox) [43].

Воспаление

В тестах in vitro также может быть исследована индукция провоспалительной активности клеток после культивирования в присутствии биоматериалов [4]. При этом в качестве модели могут быть использованы не только собственно иммунокомпетентные клетки (моноциты, макрофаги), но и эндотелиальные клетки. Например, для оценки адгезии мононуклеарные моноциты человека активировали липополисахаридом для индукции дифференцировки в макрофаги и активации воспалительного потенциала, после чего инкубировали в присутствии тканеинженерных скаффолдов в течение 12 и 24 часов. Число адгезировавших макрофагов оценивают по активности лактатдегидрогеназы [44]. Также можно оценивать экспрессию генов IL-8 и циклооксигеназы-2 методами ДНК-микрочипирования и ПЦР в реальном времени. При этом увеличение экспрессии этих генов будет свидетельствовать об активации провоспалительной активности клеток [43].

Широкое распространение для определения содержания провоспалительных цитокинов и других

медиаторов воспаления получили методы иммуноферментного анализа (материалом служит кондиционированная культуральная среда), а также проточная цитометрия и вестерн-блоттинг (материалом служат непосредственно клетки) [44].

Миграция клеток

Миграция клеток при контакте с материалом или продуктами его деградации демонстрирует иммуногенность и хемотактический потенциал используемого материала. Эти свойства также являются важной характеристикой биосовместимости. Поэтому оценка миграционной активности различных клеток после культивирования в присутствии биоматериалов представляет все больший интерес. Так, в одном из исследований тканеинженерные скаффолды с иммобилизованными в них ростовыми факторами помещали в нижнюю камеру Боудена и погружали в бессывороточную среду. На покрытые фибронектином вставки помещали эндотелиальные клетки пупочной вены человека (HUVEC) и оценивали их миграционную активность спустя 24 часа по количеству клеток, оказавшихся на нижней стороне вставки. При этом сравнивали количество клеток, мигрировавших на нижнюю сторону вставки, по сравнению с контрольными лунками без биоматериалов. Дополнительно оценивали количество жизнеспособных клеток [45].

Гемосовместимость является важной характеристикой материалов, имплантируемых в сосудистое русло и имеющих непосредственный контакт с клетками крови. Для успешной интеграции в сосудистое русло протез должен обладать двумя фундаментальными биологическими свойствами: способностью к эндотелизации и гемосовместимостью. Тромбогенные свойства сосудистого скаффолда играют наиболее важную роль на ранних этапах регенерации сосуда, когда каркас не до конца покрыт монослоем эндотелиальных клеток. Окклюзия графта из-за тромбоза является одной из причин неудачных имплантаций. Тромбогенность биоматериала in vitro можно оценить по адгезии к нему тромбоцитов. При этом количество клеток коррелирует с содержанием в них фермента лактатдегидрогеназы (LDH) [44]. Это позволяет использовать метод спектрофотометрии (длина волны 340 нм) после проведения реакции восстановления субстрата (пирувата в присутствии NADH) ферментом LDH (в лизате тромбоцитов) для установления количества адгезировавших тромбоцитов.

Для анализа тромбогенности материала также применяют оценку времени свертывания цельной крови в присутствии биоматериала. Для этого цельную венозную кровь, собранную в пробирки с цитратом натрия в качестве антикоагулянта, реактивируют добавлением 10% раствора 0,1M $CaCl_2$ и немедленно помещают в лунки 12-луночного планшета совместно с биоматериалами на 10, 30 и 60 минут. Затем лизируют эритроциты, не попавшие в тромб, добавлением дистиллированной воды. Далее проводят спектрофотометрический анализ (длина волны 540 нм) гемоглобина из лизированных эритроцитов. Чем выше уровень гемоглобина, тем меньше эритроцитов оказалось в тромбе, и тем менее тромбогенными свойствами обладает материал [44].

Кроме того, возможно использование метода проточной цитометрии для оценки уровня экспрессии поверхностных клеточных молекул адгезии. Так, в одном исследовании проточная цитометрия применялась для оценки экспрессии тромбомодулина, который является компонентом системы антикоагуляции; тканевого фактора; а также эндотелиального рецептора протеина С (CD201), который участвует в регуляции свертывания крови, на эндотелиальных клетках после культивирования на материале [46].

Заключение

Таким образом, современная парадигма биосовместимости подразумевает важность всей системы — материал, клетки, организм. При этом сам материал, безусловно, влияет на феномен биосовместимости, однако он тесно связан с функциональными характеристиками организма реципиента, его клеток и тканей. В современных условиях к биоматериалу предъявляются более высокие (в том числе функциональные) требования, выходящие за рамки «простой» биоинертности в организме пациента. Таким образом, всестороннее тестирование биоматериала в системах in vitro приобретает высокую значимость. В зависимости от вида исследуемого биологического материала, его физических, химических и механических характеристик, а также приложения в биологии или медицине возможен подбор различных методов тестирования биосовместимости с учетом конкретных задач, поставленных перед исследователем. Немаловажным оказывается опыт работы конкретной лаборатории с теми или иными методами исследования, наличие приборной и ресурсной базы. При выборе спектра исследований также необходимо учитывать тренды современной доказательной медицины, по которым целесообразно одни и те же наблюдения подтверждать разными методами.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 16-13-10239).

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Williams DF. There is no such thing as a biocompatible material. Biomaterials. 2014; 35:10009–14.
2. Williams DF. On the mechanisms of biocompatibility. Biomaterials. 2008; 29:2941–2953.
3. Reeve L, Baldrick P. Biocompatibility assessments for medical devices — evolving regulatory considerations. Expert Rev. Med. Devices. 2017; 14:161–167.
4. Bryers JD, Giachelli CM, Ratner BD. Engineering biomaterials to integrate and heal: The biocompatibility paradigm shifts. Biotechnol. Bioeng. 2012; 109 (8):1898–1911.
5. Swetha B, Mathew S, Murthy BVS et al. Determination of biocompatibility: A review. Int. Dent. Med. J. Adv. Res. 2015; 1:1–6.
6. Onuki Y, Bhardwaj U, Pharm M et al. A Review of the Biocompatibility of Implantable Devices: Current Challenges to Overcome Foreign Body Response. J. Diabetes Sci. Technol. 2008; 2:1003–1015.

Rodina AV, Tenchurin TK, Saprykin VP et al. Proliferative and Differentiation Potential of Multipotent Mesenchymal Stem Cells Cultured on Biocompatible Polymer Scaffolds with Various Physicochemical Characteristics. Bull. Exp. Biol. Med. 2017; 162:488–495.

7. Williams DF. The Williams dictionary of biomaterials. Liverpool: Liverpool University Press; 1999.
8. Sevostyanova VV, Elgudin YL, Wnek GE et al. Properties of tissue-engineering polycaprolactone matrices impregnated by VEGF and bFGF growth factors. Cellular Transplantation and Tissue Engineering. 2012; VII:62–67. In Russian [Севостьянова В. В., Elgudin Y. L., Wnek G. E. и др. Свойства тканеинженерных матриксов из поликапролактона, импрегнированных факторами роста VEGF и bFGF. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2012; VII:62–67].
9. Antonova LV, Matveyeva VG, Borisov VV et al. Impact of various modifications of biodegradable membranous scaffolds surface on multipotent mesenchimal stromal cells adhesion and viability. Bulletin of Siberian Medicine. 2012; 4:5–13. In Russian [Антонова Л. В., Матвеева В. Г., Борисов В. В. и др. Влияние различных вариантов модификации поверхности биодеградируемых пленочных матриксов на адгезию и жизнеспособность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток. Бюллетень сибирской медицины. 2012; 4:5–13].
10. Hadjizadeh A, Doillon CJ. Directional migration of endothelial cells towards angiogenesis using polymer fibres in a 3D co-culture system. J. Tissue Eng. Regen. Med. 2010; 4:524–531.
11. Keong LC, Halim AS. In Vitro models in biocompatibility assessment for biomedical-grade chitosan derivatives in wound management. Int. J. Mol. Sci. 2009; 10:1300–1313.
12. Bruner LH, Carr GJ, Chamberlain M et al. Validation of Alternative Methods for Toxicity Testing. Toxicol. Vitr. 1996; 479–501.
13. Chiellini F. Perspectives on: In Vitro Evaluation of Biomedical Polymers. J. Bioact. Compat. Polym. 2006; 21:257–271.
14. Kirkpatrick CJ, Bittinger F, Wagner M et al. Current Trends in Biocompatibility Testing. Proc. Instn. Mech. Engrs. 1998;75–84.
15. Pizzoferrato A, Ciapetti G, Stea S et al. Cell Culture Methods for Testing Biocompatibility. Clin. Mater. 1994;173–190.
16. Dekker A, Panfil C, Valdor M et al. Quantitative Methods for In Vitro Cytotoxicity Testing of Biomaterials. Cell Mater. 1994; 4: 101-112.
17. ASTM document F, Standard practice for direct contact cell culture evaluation of materials for medical devices. 1983.
18. Part 5. Tests for cytotoxicity: in vitro methods, International Organisation of Standardisation, Geneva,. ISO Doc. Biol. Compat. Med. devices. 1992.
19. Silva GA, Marques AP, Gomes ME et al. Cytotoxicity Screening of Biodegradable Polymeric Systems. In: Reis RL, San Roman J (eds). Biodegradable Systems in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. Boca Raton, FL: CRC Press; 2004: 339–349.
20. Ferruti P, Bianchi S, Ranucci EF et al. Novel Agmatine-containing Poly(amidoamine) Hydrogels as Scaffolds for Tissue Engineering. Biomacromolecules. 2005; 2229–2235.
21. Harmand MF. Part I: Toxicological Risk Evaluation Using Cell Culture. In: Braybrook JH (ed). Biocompatibility Assessment of Medical Devices and Materials. London: John Wiley & Sons; 1997: p. 121.
22. Kirkpatrick CJ, Dekker A. Quantitative Evaluation of Cell Interaction with Biomaterials In Vitro. In: Doherty PJ, Kirkpatrick CJ and Dekker A (eds). Biomaterial-Tissue Interfaces. Amsterdam: Elsiever; 1992: p. 31.
23. Signori F, Chiellini F, Solaro R. New Self-assembling Biocompatible-biodegradble Amphiphilic Block Copolymers. Polymers (Basel). 2005; 9642–9652.
24. Cortês JA, Mavropoulos E, Hausen M et al. Methodological Implications on Quantitative Studies of Cytocompatibility in Direct Contact with Bioceramic Surfaces. Key Eng. Mater. 2011; 493–494: 325–330.
25. Tsaryk R, Peters K, Unger RE et al. Improving cytocompatibility of Co28Cr6Mo by TiO 2 coating: gene expression study in human endothelial cells. 2013; 10(86).
26. Kudriavtsev IV, Golovkin AS, Zurochka AV et al. Modern technologies and approaches to apoptosis studies in experimental biology. Medical Immunology. 2012; 14:461–82. In Russian: [Кудрявцев И. В., Головкин А. С., Зурочка А. В. и др. Современные методы и подходы к изучению апоптоза в экспериментальной биологии. Медицинская иммунология. 2012; 14:461–82].
27. Verhoven B, Schlegel RA, Williamson P. Mechanisms of phosphatidylserine Exposure a phagocyte recognition signal on apoptotic T–lymphocytes. J. Exp. Med. 1995; 182:1597–1601.
28. Idziorek T, Estaquier J, De Bels F et al. YOPRO-1 permits cytofluorometric analysis of programmed cell death (apoptosis) without interfering with cell viability. J. Immunol. Methods. 1995; 185:249–258.
29. Glisic-Milosavljevic S, Waukau J, Jana S et al. Comparison of apoptosis and mortality measurements in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) using multiple methods. Cell Prolif. 2005; 38:301–311.
30. Stokes L, Jiang LH, Alcaraz L et al. Characterization of a selective and potent antagonist of human P2X(7) receptors, AZ11645373. Br J Pharmacol. 2006; 149:880–887.

31. Yamamoto A, Mishima S, Maruyama N et al. Quantitative Evaluation of Cell Attachment to Glass, Polystyrene and Fibronectin Shear, or Collagen-coated Polystyrene by Measurement of Cell Adhesive Force and Cell Detachment Energy. J. Biomed. Mater. Res. 2000; 114–124.

32. Ruggiero C, Mantelli M, Curtis A et al. Protein-surface Interactions: An Energy Based Mathematical Model. Cell Biochem. Biophys. 2005; 407–418.

33. Barbucci R, Pasqui D, Wirsen A et al. Micro- and Nano-structured Surfaces. J. Mater. Sci. Mater. Med. 2003; 721–725.

34. Owen GR, Meredith DO, Gwynn AP et al. Focal Biocompatibility? Adhesion Quantification — A New Assay of Material: Review. Eur. Cell Mater. 2005; 85–96.

35. Manso M, Ogueta S, Perez-Riguero J et al. Testing Biomaterials by the In-situ Evaluation of cell Response. Biomol. Eng. 2002; 239–242.

36. Musilkova J, Kotelnikov I, Novotna K et al. Cell adhesion and growth enabled by biomimetic oligopeptide modification of a polydopamine-poly(ethylene oxide) protein repulsive surface. J. Mater. Sci. Mater. Med. 2015; 26:1–13.

37. Biological Evaluation of Medical Devices, Part 3. ISO 10993 Tests Genotoxicity, Carcinog. Reprod. Toxicity. ISO Geneva, Switzerland. 1994.

38. Use of International Standard ISO 10993-1, "Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing within a risk management process." 2016.

39. Butte A. Use and Analysis of Microarray Data. Nat. Rev. Drug Discov. 2004; 951–960.

40. Carpenter AE, Sabatini DM. Systematic Genome-wide Screens of Gene Function. Nat. Rev. Genet. 2004; 11–22.

41. Washburn MP, Wolters D, Yates 3rd JR. Large-scale Identification, Analysis of the Yeast Proteome by Multidimensional Protein Technology. Nat. Biotechnol. 2001; 242–247.

42. Potnis PA, Tesfamariam B, Wood SC. Induction of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate oxidase and apoptosis by biodegradable polymers in macrophages: implications for stents. J. Cardiovasc. Pharmacol. 2011; 57:712–720.

43. Haghjooy Javanmard S, Anari J, Zargar Kharazi A et al. In vitro hemocompatibility and cytocompatibility of a three-layered vascular scaffold fabricated by sequential electrospinning of PCL, collagen, and PLLA nanofibers. J Biomater Appl. 2016; 31:438–449.

44. Lakshmanan R, Kumaraswamy P, Krishnan UM et al. Engineering a growth factor embedded nanofiber matrix niche to promote vascularization for functional cardiac regeneration. Biomaterials. 2016; 97:176–195.

45. Wood S, Hancock G, Tesfamariam B. Bioresorbable polymers and paclitaxel impair endothelial regeneration by induction of autophagy. J Am Coll Cardiol. 2015; 66:15_S.

Информация об авторах:

Викнянщук Алиса Николаевна, магистрант биологического факультета, Санкт-Петербургский государственный университет;

Мишанин Александр Игоревич, младший научный сотрудник, Институт молекулярной биологии и генетики, ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Твердохлебов Сергей Иванович, кандидат физико-математических наук, доцент, Национальный Томский политехнический университет;

Головкин Алексей Сергеевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, Институт молекулярной биологии и генетики, ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Alisa N. Vikniansh chuk, graduate student, Faculty of Biology, Saint-Petersburg State University;

Alexander I. Mishanin, junior research fellow, Institute of Molecular Biology and Genetics, Federal Almazov North-West Medical Research Centre;

Sergei I. Tverdokhlebov, PhD, associate professor, Tomsk National Polytechnic University;

Alexey S. Golovkin, PhD, MD, senior researcher, Institute of Molecular Biology and Genetics, Federal Almazov North-West Medical Research Centre.

ISSN 2311-4495
ISSN 2410-5155 (Online)
УДК 57:616.1

КЛЕТОЧНЫЕ БИОМАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ПРОГНОЗОМ ПРИ ОСТРЫХ КОРОНАРНЫХ СОБЫТИЯХ

Артемова И.А., Козлова С.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация
Артемова Ирина Александровна
ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Россия, 197341
E-mail: shvedik84@mail.ru

Статья поступила в редакцию 26.01.2017 и принята к печати 10.02.2017 .

Резюме

В данном обзоре литературы клеточные маркеры повреждения эндотелия рассматриваются как новый диагностический и прогностический маркер сердечно-сосудистого риска. Особое значение уделяется эндотелиальной дисфункции как ключевому звену в формировании системной воспалительной реакции и активации коагуляции у пациентов, перенесших острые сердечно-сосудистые события.

Ключевые слова: микрочастицы, прогениторные клетки, эндотелиальные циркулирующие клетки, эндотелиальная дисфункция, маркер повреждения эндотелия.

Для цитирования: Трансляционная медицина. 2017; 4 (1): 41–48.

CELLULAR BIOMARKERS OF ENDOTHELIAL DAMAGE ASSOCIATED WITH ADVERSE PROGNOSIS IN ACUTE CORONARY EVENTS

Artemova I.A., Kozlova S.N.

Federal Almazov North-West Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:
Irina A. Artemova
Federal Almazov North-West Medical Research Centre
Akkuratova str. 2, Saint Petersburg, Russia, 197341
E-mail: shvedik84@mail.ru

Received 26 January 2017; accepted 10 February 2017.

Abstract

This literature review considers the cellular markers of endothelial damage as a new diagnostic and prognostic marker of cardiovascular risk the emphasis is on endothelial dysfunction as a key element in the development of systemic inflammatory response and activation of coagulation in patients after acute cardiovascular events.

Key words: microparticles, progenitor cells, circulating endothelial cells, endothelial dysfunction, marker of endothelial damage.

For citation: Translyatsionnaya meditsina= Translational Medicine. 2017; 4 (1): 41–48.

Список сокращений:

ОКС — острый коронарный синдром
СЛР — сердечно-легочная реанимация
ЦЭК — циркулирующие эндотелиальные клетки
ЭАМ — эндотелиальные апоптотические микрочастицы
ЭПК — эндотелиальные прогениторные клетки

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания удерживают лидирующие позиции в структуре смертности и инвалидизации населения. Внезапная остановка кровообращения у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) всегда ассоциируется с неблагоприятым клиническим прогнозом и остается серьезной проблемой общественного здравоохранения. Изменение подходов к проведению реанимационных мероприятий, показаний к немедленной коронарографии, а также постреанимационного ухода, в том числе терапевтическая гипотермия реанимированных пациентов, значительно улучшили выживаемость [1]. Однако остается открытым вопрос долгосрочного прогноза у этих больных. У большинства из них развивается постреанимационная болезнь, в рамках которой можно говорить об эндотелиальной дисфункции, как проявлении системной воспалительной реакции [2]. Это дает повод специалистам продолжать поиски новых прогностических маркеров, влияющих на исходы течения болезни у данной группы пациентов [3, 4].

К настоящему времени изучено и описано множество воспалительных маркеров, приводящих к дисфункции эндотелия, при ишемической болезни сердца [4]. Существуют исследования, подтверждающие, что повышение воспалительных биомаркеров у пациентов с ОКС ассоциировано с повышенным риском летального исхода или повторного развития острых коронарных событий [5]. В последние годы в отечественной и зарубежной литературе появляется все больше сообщений о значении повреждения эндотелия с высвобождением эндотелиальных апоптотических микрочастиц (ЭАМ), как одного из ключевых факторов формирования системной воспалительной реакции, а также активации коагуляции, что в свою очередь влияет на прогрессирование полиорганной недостаточности и неврологической и сосудистой дисфункции у пациентов, перенесших клиниче-

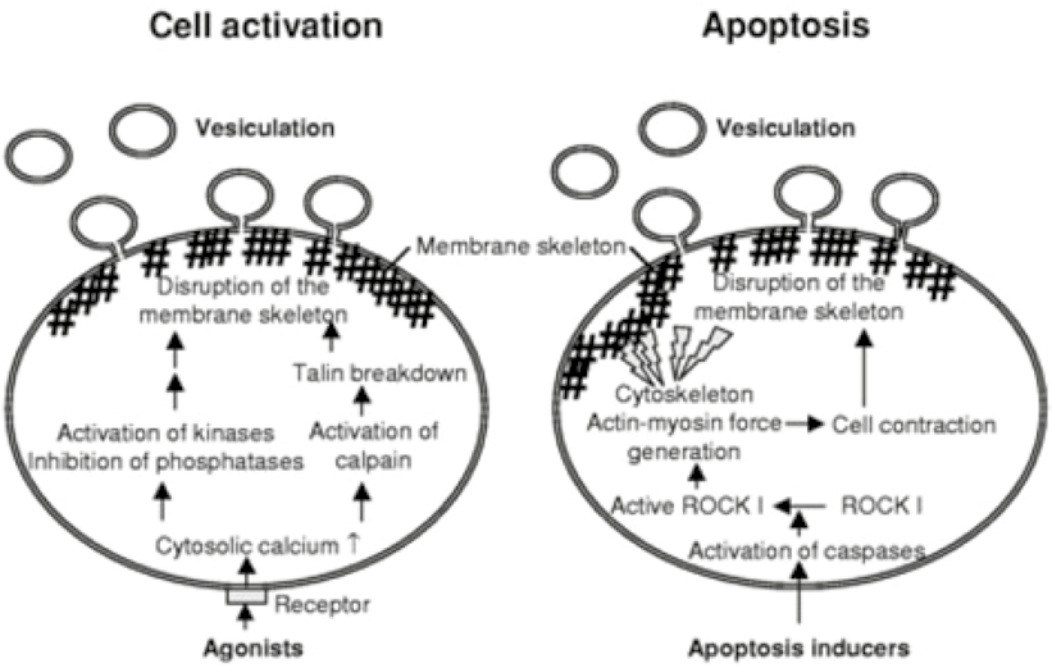
скую смерть [6-9]. Повреждение эндотелиального гликокаликса также рассматривается как патофизиологический компонент постреанимационного синдрома [7]. Поэтому современные исследователи все больше уделяют внимание клеточным биомаркерам эндотелиальной дисфункции [10].

Дефиниция клеточных биомаркеров эндотелиальной дисфункции:

Эндотелиальная дисфункция является системным явлением, при котором эндотелий не может поддерживать сосудистый гомеостаз. На сегодняшний день существует много исследований, говорящих о том, что мощными биомаркерами повреждения эндотелия могут быть не только биохимические, но и клеточные маркеры. К ним относят: эндотелиальные апоптотические микрочастицы (ЭАМ), эндотелиальные прогениторные клетки и циркулирующие эндотелиальные клетки [10].

ЭАМ являются ануклеарными фрагментами плазменных мембран, размером 50 нм-1000 нм, состоящими из окисленных фосфолипидов и специфических белков, которые представляют клетки, из которых они происходят [11, 24]. Это гетерогенная популяция микрочастиц, они индуцируются при активации или апоптозе эндотелиоцитов (Рис.1). Многие исследователи считают, что основной функцией ЭАМ является обеспечение межклеточных коммуникаций, перенос биологически активных молекул, цитокинов, хемокинов, факторов роста, микро-РНК, которые участвуют в информационном обеспечении тканей [8,11,12,24]. Стимуляторами продукции ЭАМ могут быть провоспалительные цитокины [16, 17], ангиотензин-2 [14], оксидативный стресс[13,14], стресс напряжения-сдвига [14]. Образование микрочастиц, как полагают, происходит путем везикуляции или «блеббинга» клеточной мембраны. Сложные механизмы, регулирующие процессы ремоделирования в мембране, связаны с изменением цитоскелета и перехода от нормальной организации фосфолипидов плазматической мембраны к ее асимметрии [12]. Процесс формирования микрочастиц сопровождается значительным притоком внутриклеточного Ca^{2+} из внеклеточной среды и эндоплазматического ретикулума, что вызывает окислительный стресс. Это приводит к накоплению Ca^{2+} в митохондриях и ядрах клеток, что вызывает дисфунк-

Рисунок 1. Схематичное изображение формирования микрочастиц при активации клетки (рисунок слева) и апоптозе (рисунок справа) (из [57])



Cell activation — клеточная активация, apoptosis — апоптоз, vesiculation — везикуляция, disruption of the membrane skeleton — разрушение мембранного скелета, talin breakdown — поломка талина, activation of calpain — активация калпаина, activation of kinases inhibition of phosphatases — активация киназного пути ингибирования фосфатаз, cytosolic calcium — цитозольный кальций, receptor — рецептор, agonists — агонисты, cytoskeleton Actin-myosin force generation — активация актин-миозинового клеточного скелета, cell contraction — сокращение клетки, active ROCK 1 — активные ROCK 1, activation of caspases — активация каспаз, apoptosis in ducers — индукторы апоптоза

цию митохондрий, снижение их трансмембранного потенциала, следовательно, нарушает механизмы генерации АТФ, которая необходима в том числе для взаимодействия белков цитоскелета. В ядрах Ca^{2+} модулирует транскрипцию генов и нуклеазы, которые контролируют клеточный апоптоз [13]. Стресс напряжения-сдвига также стимулирует высвобождение эндотелиальных микрочастиц через активацию эндотелиальных Rho-киназных и ингибитор протеинкиназ-1 и 2 –зависимых путей [13, 14]. Так же стоит отметить, что «блеббинг» плазматической мембраны происходит независимо от других апоптотических изменений и не участвует в распознавании и захвате апоптотических клеток макрофагами [15].

В проанализированной литературе особое внимание обращается на тот факт, что эндотелиальные микрочастицы могут не только обеспечивать межклеточное взаимодействие, но и отражать выраженность повреждения эндотелиальных клеток, являться факторами повышенной коагуляции и воспаления, а также сами способствуют усугублению эндотелиальной дисфункции [18, 19, 20, 21, 22]. При динамическом исследовании клиренса циркулирующих микрочастиц во время сердечного стресс-теста было показано, что их повышение в ответ на стресс может быть нормальной физиологической реакцией [23]. Таким образом, остается не до конца ясна граница между физиологическим образованием и взаимодействием микрочастиц и началом их патологического влияния.

Повреждение эндотелия играет ключевую роль при ишемической болезни сердца (ИБС), в частности при острых сердечно-сосудистых событиях. Известно, что у пациентов данной группы отмечается значительно более высокий уровень циркулирующих микрочастиц, чем у здоровых лиц, что позволяет рассматривать микрочастицы как потенциальный независимый предиктор неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [19, 27, 28, 29]. По данным исследований, повышение циркулирующих микрочастиц при ИБС ухудшает атеропротективные функции эндотелия за счет снижения синтеза оксида азота и поддерживает локальное воспаление путем экспрессии молекул адгезии на поверхности эндотелиоцитов, а также стимулирует апоптоз клеток, что приводит к образованию новых микрочастиц [27].

Существуют исследования, показывающие прогностическую ценность ЭАМ у пациентов с ОКС, а также у пациентов после внезапной сердечной смерти на фоне коронарной окклюзии [25, 26, 28]. По данным Empana J.P. с соавт. (2015), были отмечены высокие концентрации ЭАМ у пациентов после остановки кровообращения на фоне острой окклюзии коронарной артерии при сравнении с группой пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST без нарушений ритма, что может говорить о различных моделях коронарной окклюзии данных групп больных [26].

Эндотелиальные прогениторные клетки (ЭПК)

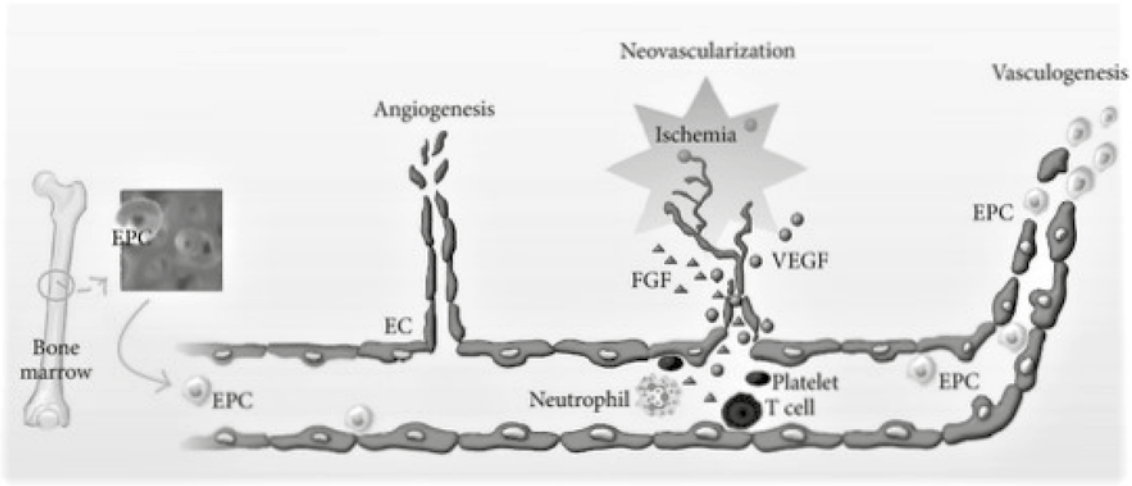
Эндотелиальными прогениторными клетками называют клетки-предшественники, обнаруживаемые в плазме и костном мозге, которые могут дифференцироваться в зрелые эндотелиальные клетки. ЭПК меньше 15 мкм по размерам, их можно идентифицировать по основным маркерам: CD34, CD31, CD133, CD144, VEGFR-2 (vascular endothelial growth factor receptor-2), хотя точные критерии для определения ЭПК методом проточной цитометрии остаются спорным вопросом. [10, 30, 31, 36]. В отличие от микрочастиц, которые в основном отражают повреждение эндотелия, в литературе ЭПК рассматриваются в основном как маркер сосудистой неоваскуляризации и неоэндотелизации [10, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36] (Рис. 2). Существуют исследования, в которых нарушение мобилизации и истощение ЭПК рассматривается как маркер эндотелиальной дисфункции и фактор риска прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний [37, 39, 40, 41, 57] и прогрессирования субклинического атеросклероза [38, 41], их также можно рассматривать как предиктор повторных сердечно-сосудистых событий у пациентов с уже перенесенным атеротромботическим инсультом или инфарктом миокарда [42]. В проапоптотической среде также может отмечаться увеличение микрочастиц, происходящих из ЭПК, что снижает уровень циркулирующих ЭПК и таким образом способствует повышению жесткости аорты и риска сердечно-сосудистых событий [43, 56].

Таким образом, как уменьшение ЭПК может способствовать эндотелиальной дисфункции, так и их увеличение может быть маркером репарации эндотелия после повреждения, репарации ишемизированных тканей.

Циркулирующие эндотелиальные клетки (ЦЭК)

ЦЭК являются зрелыми эндотелиальными клетками от 15 до 50 мкм в диаметре. Считается, что они свободно циркулируют в крови после повреждения интимы сосуда и довольно редко встречаются в крови в норме. Поверхностные маркеры ЦЭК зависят от их происхождения: микрососудистые эндотелиальные клетки экспрессируют

Рисунок 2. Иллюстрация способности циркулирующих EPC способствовать неоваскуляризации в ишемизированной ткани (из [58])



ECP — эндотелиальные прогениторные клетки, EC — эндотелиальные клетки, FGF — факторы роста фибробластов, VEGF — фактор роста эндотелия сосудов, bone marrow — костный мозг, angiogenesis — ангиогенез, neovascularisation — неоваскуляризация, ischemia — ишемия, vasculogenesis — васкулогенез, neutrophil — нейтрофил, platelet — тромбоцит, T cell — Т- клетка.

CD36, в отличии от CD36-негативного макрососудистого эндотелия. Так, по результатам исследований, при инфаркте миокарда у CD36-позитивных пациентов менее 10% ЦЭК, что говорит о макрососудистом характере повреждения [49, 50]. Плазменный уровень ЦЭК отражает степень повреждения эндотелия и может определяться в крови при самых разнообразных заболеваниях, в том числе воспалительных, иммунных, инфекционных, неопластических и сердечно-сосудистых. Пункция сосуда, установка стента также могут вызвать десквамацию эндотелиоцитов [48]. Установлено, что увеличение ЦЭК часто происходит после острых сердечно-сосудистых заболеваний, например, как результат десквамации от сосудистой стенки во время разрыва атеросклеротической бляшки, но не изменяется при их стабильном течении [44, 45, 50]. Стоит отметить, что из-за тесной временной взаимосвязи с повреждением сосуда диагностическую ценность определения ЦЭК возможно рассматривать даже как более высокую, чем КФК-МВ и сердечных тропонинов, в частности, у пациентов с инфарктом миокарда без подъема сегмента ST и нестабильной стенокардии, у которых диагноз часто зависит от сочетания клинико-лабораторных синдромов [46, 47, 50, 51]. Несмотря на схожесть ЦЭК со зрелыми эндотелиоцитами, они могут изменять свою морфологию в зависимости от функционального состояния: активированные, апоптотические или некротические [47, 51, 52]. Несколько исследований было проведено для исследования степени активации ЦЭК у пациентов после клинической смерти в качестве индикатора эндогенного повреждения эндотелия. У этих больных выявлен высокий уровень ЦЭК, который положительно коррелировал со временем сердечно-легочной реанимации [54].

У пациентов перенесших клиническую смерть и успешную сердечно-легочную реанимацию (СЛР), тотальная ишемия и реперфузия органов индуцирует активацию эндотелия и, следовательно, системного воспалительного ответа, которые рассматривают в рамках постреанимационной болезни [3, 7, 54, 55]. В исследовании Fink K. с соавт. (2010) были проанализированы клеточные маркеры повреждения эндотелия (ЭАМ, ЭПК, ЦЭК) у пациентов после успешной СЛР. Были представлены доказательства тяжелого повреждения эндотелия после СЛР: повышение ЦЭК, повышение ЭАМ после восстановления спонтанного кровообращения, причем отмечалась положительная корреляция с продолжительностью СЛР. ЭПК достигали пика на 2-й день после клинической смерти. Таким образом, было показано тяжелое повреждение эндотелия с последующим началом его регенерации [56].

Заключение

Клеточные маркеры воспаления можно рассматривать как диагностический и прогностический маркер сердечно-сосудистого риска в рамках комплексной оценки системного воспалительного ответа на повреждение эндотелия. Необходимы

дальнейшие исследования особенностей межклеточных взаимодействий, создание наиболее точных прогностических моделей. Также повреждение эндотелия может рассматриваться в качестве потенциальной терапевтической мишени у пациентов с признаками его дисфункции.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Kern KB, Lotun K, Patel N et al. Outcomes of Comatose Cardiac Arrest Survivors With and Without ST-Segment Elevation Myocardial Infarction: Importance of Coronary Angiography. JACC Cardiovasc Interv. 2015;8(8):1031-40.
2. Usenko LV, Tsarev AV, Yarovenko VV. Postresuscitative disease: far from the unrealized potential (The current state of the problem). Emergency Medicine. 2008; 4 (17). In Russian [Усенко Л.В., Царев А.В., Яровенко В.В. Постреанимационная болезнь: далеко не реализованный потенциал (Современное состояние проблемы). Медицина неотложных состояний. 2008; 4(17)].
3. Grundmann S, Fink K, Rabadzhieva L et al. Perturbation of the endothelial glycocalixin post cardiac arrest syndrome. Resuscitation. 2012; 83: 715-720.
4. Lubrano V, Balzan S. Consolidated and emerging inflammatory markers in coronary artery disease. World J Exp Med. 2015;5(1):21-32.
5. Zamani P, Schwartz GG, Olsson AG et al. Inflammatory biomarkers, death, and recurrent nonfatal coronary events after an acute coronary syndrome in the MIRACL study. Journal of the American Heart Association. 2013;2(1):e003103.
6. Berezin AE, Kruzliak P. Circulating endothelial apoptotic microparticles as novel marker of the cardiovascular risk (review). Ukrainian Medical Journal. 2014; 5(103): 83-87. In Russian [Березин А.Е., Крузляк П. Циркулирующие эндотелиальные апоптотические микрочастицы как новый маркер кардиоваскулярного риска (обзор литературы). Украинский медицинский журнал. 2014; 5(103): 83-87].
7. Fursov AA, Salmina AB, Sokolovich AG et al. Pathogenesis of a Systemic Inflammatory Reaction: New Aspects. General resuscitation. 2008; 4(2): 84-87. In Russian [Фурсов А.А., Салмина А.Б., Соколович А.Г. и др. Новые аспекты патогенеза системной воспалительной реакции. Общая реаниматология. 2008; 4(2): 84-87].
8. Korenkov DA, Ovchinnikova OM, Selkov SA et al. Role of microparticles in intercellular communication. Cell and Tissue Biology. 2014; 56(7): 480-488. In Russian [Кореньков АД, Овчинникова ОМ, Сельков СА и др. Роль микрочастиц в межклеточной коммуникации. Цитология. 2014; 56(7): 480-488].
9. Clifton W, Callaway MD. Endothelial damage after cardiac arrest — "Endotheliitis". Resuscitation. 2012; 83(6): 667-668.
10. Burger D, Touyz RM. Cellular biomarkers of endothelial health: microparticles, endothelial progenitor cells, and circulating endothelial cells. Journal of the American Society of Hypertension. 2012; 6(2): 85-99.
11. Schiro A, Wilkinson FL, Weston R. Endothelial microparticles as conveyors of information in atherosclerotic disease. Atherosclerosis. 2014; 234: 295-302.
12. Enjeti AK, Lincz LF, Seldon M. Microparticles in health and disease. Seminars in thrombosis and hemostasis. 2008; 34 (7): 683-691.
13. Ermak G, Davies KJ. Calcium and oxidative stress: from cell signaling to cell death. Molecular Immunology. 2002; 38 (10): 713-721.
14. Vion AC, Ramkhelawon B, Loyer X et al. Shear stress regulates endothelial microparticle release. Circulation research. 2013; 112 (10): 1323-1333.
15. Shiratsuchi A, Mori T, Nakanishi Y. Independence of plasma membrane blebbing from other biochemical and biological characteristics of apoptotic cells. Journal of biochemistry. 2002; 132 (3): 381-386.
16. Cui Y, Zheng L, Jiang M. et al. Microparticles in patients with coronary heart disease and its correlation with interleukin-6 and C-reactive protein. Molecular biology reports. 2013; 40 (11): 6437-6442.
17. Adrie C, Monchi M, Laurent I et al. Coagulopathy after successful cardiopulmonary resuscitation following cardiac arrest: implication of the protein C anticoagulant pathway. Journal of the American College of Cardiology. 2005; 46 (1): 21-28.
18. Burger D, Montezano AC, Nishigaki N et al. Endothelial microparticle formation by angiotensin II is mediated via Ang II receptor type I/NADPH oxidase/ Rho kinase pathways targeted to lipid rafts. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 2011; 31(8): 1898–1907.
19. Dignat-George F, Boulanger CM. The many faces of endothelial microparticles. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 2011; 31 (1): 27-33.
20. Berezin A, Zulli A, Kerrigan S. et al. Predictive role of circulating endothelial-derived microparticles in cardiovascular diseases. Clinical Biochemistry. 2015; 48 (9): 562-568.
21. Yuana Y, Sturk A, Nieuwland R. Extracellular vesicles in physiological and pathological conditions. Blood Reviews. 2013; 27: 31-39.
22. Lovren F, Verma S. Evolving role of microparticles in the pathophysiology of endothelial dysfunction. Clinical Chemistry. 2013; 59 (8): 1166-1174.
23. Augustine D, Ayers LV, Lima E et al. Dynamic release and clearance of circulating microparticles during cardiac stress. Circulation Research. 2014; 114 (1): 109-113.
24. Arraud N, Linares R, Tan S et al. Extracellular vesicles from blood plasma: determination of their morphology, size, phenotype and concentration. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2014; 12 (5): 614-627.
25. Bernal-Mizrachi L, Jy W, Jimenez JJ et al. High levels of circulating endothelial microparticles in patients with acute coronary syndromes. American Heart Journal. 2003; 145(6): 962-970.
26. Empana JP, Boulanger CM, Tafflet M et al. Microparticles and sudden cardiac death due to coronary occlusion. The TIDE (Thrombus and Inflammation in sudden DEath) study. — European heart journal acute cardiovascular care. 2015; 4 (1): 28-36.
27. Boulanger CM, Rautou P-E, Vion A-C et al. Microparticles, vascular function and atherothrombosis. Vascular Pharmacology. 2012; 56(5): 318.

28. Bernal-Mizrachi L, Jy W, Fierro C et al. Endothelial microparticles correlate with high-risk angiographic lesions in acute coronary syndromes. International journal of cardiology. 2004; 97 (3): 439-46.

29. Sinning JM, Losch J, Walenta K et al. Circulating CD31+/Annexin V+ microparticles correlate with cardiovascular outcomes. European heart journal. 2011; 32(16): 2034-2041.

30. Timmermans F, Plum J, Yöder MC et al. Endothelial progenitor cells: identity defined? Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2009; 13 (1): 87-102.

31. Hunting CB, Noort WA, Zwaginga JJ. Circulating endothelial (progenitor) cells reflect the state of the endothelium: vascular injury, repair and neovascularization. Vox Sanguinis. 2005; 88 (1): 1-9.

32. Alexandru N, Andrei E, Dragan E et al. Interaction of platelets with endothelial progenitor cells in the experimental atherosclerosis: Role of transplanted endothelial progenitor cells and platelet microparticles. Biology of the cell. 2015; 107 (6): 189-204.

33. Sarah A, Hubert N, Marie F et al. Tissue engineering strategies for promoting vascularized bone regeneration. Bone. 2016, 83: 197-209.

34. Asahara T, Takahashi T, Masuda H et al. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. Embo Journal. 1999; 18 (14): 3964-3972.

35. Salmin AB, Morgun AV Kuvacheva NV et al. Endothelial progenitor cells in the development and recovery of cerebral endothelium. Modern medical technology. 2014; 6 (4): 213-222. In Russian [Салмина А.Б., Моргун А.В., Кувачева Н.В. и др. Эндотелиальные прогениторные клетки в развитии и восстановлении церебрального эндотелия. Современные технологии в медицине. 2014; 6(4): 213-222].

36. Poveshchenko OV, Poveshchenko AF, Konenkov VI. Endothelial progenitor cells and neovaskulogenez. Biology Bulletin Reviews. 2012; 1: 69-76. In Russian [Повещенко О.В., Повещенко А.Ф., Коненков В.И. Эндотелиальные прогениторные клетки и неоваскулогенез. Успехи современной биологии. 2012; 1: 69-76].

37. Hill JM, Zalos G, Halcox JP et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. New England Journal of Medicine. 2003; 348 (7): 593-600.

38. Castejon R, Jimenez-Ortiz C, Valero-Gonzalez S et al. Decreased circulating endothelial progenitor cells as an early risk factor of subclinical atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. Rheumatology. 2014; 53 (4): 631-638.

39. Werner N, Kosiol S, Schiegl T et al. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. New England Journal of Medicine. 2005; 353 (10): 999-1007.

40. Geft D, Schwartzenberg S, George J. Circulating endothelial progenitor cells in cardiovascular disorders. Expert Review of Cardiovascular Therapy. 2008; 6(8): 1115-1121.

41. Liu HB, Gong YF, Yu CJ et al. Endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases: from biomarker to therapeutic agent. Regenerative Medicine Research. 2013; 1 (1): 9.

42. Cuadrado-Godia E, Regueiro A, Nunez J et al. Endothelial Progenitor Cells Predict Cardiovascular Events after Atherothrombotic Stroke and Acute Myocardial Infarction. A PROCELL Substudy. PLoS ONE. 2015; 10 (9): e0132415.

43. Pirro M, Schillaci G, Bagaglia F et al. Microparticles derived from endothelial progenitor cells in patients at different cardiovascular risk. Atherosclerosis. 2008;197(2):757-767.

44. Boos CJ, Lip GY, Blann AD. Circulating endothelial cells in cardiovascular disease. Journal of the American College of Cardiology. 2006; 48 (8): 1538-1547.

45. Erdbruegger U, Haubitz M, Woywodt A. Circulating endothelial cells: a novel marker of endothelial damage. Clinica Chimica Acta. 2006; 373(1): 17-26.

46. Woywodt A, Scheer J, Hambach L. Circulating endothelial cells as a marker of endothelial damage in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Blood. 2004; 103 (9): 3603-3605.

47. Blann AD, Woywodt A, Bertolini F. Circulating endothelial cells. Biomarker of vascular disease. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2005; 93 (2): 228-235.

48. Boos CJ, Balakrishnan B, Jessani S. Effects of percutaneous coronary intervention on peripheral venous blood circulating endothelial cells and plasma indices of endothelial damage/dysfunction. Chest. 2007; 132 (6): 1920-1926.

49. Swerlick RA, Lee KH, Wick TM et al. Human dermal microvascular endothelial but not human umbilical vein endothelial cells express CD36 in vivo and in vitro. Journal of Immunology. 1992; 148: 78-83.

50. Mutin M, Canavy I, Blann A et al. Direct evidence of endothelial injury in acute myocardial infarction and unstable angina by demonstration of circulating endothelial cells. Blood. 1999; 93 (9): 2951-2958.

51. Damani S, Bacconi A, Libiger O et al. Characterization of circulating endothelial cells in acute myocardial infarction. Science Translational Medicine. 2012; 4 (126): 126ra33.

52. Bethel K, Luttgen MS, Damani S et al. Fluid phase biopsy for detection and characterization of circulating endothelial cells in myocardial infarction. Physics in Medicine and Biology. 2014; 11: 016002.

53. David E, Schmidt BSc, Marco Manca et al. Circulating endothelial cells in coronary artery disease and acute coronary syndrome. Trends in Cardiovascular Medicine. 2015; 25(7): 578-587.

54. Fink K, Schwarz M, Horst C et al. Activated circulating endothelial cells in patients after successful prehospital cardiopulmonary resuscitation. Resuscitation. 2008; 77: S35-S35.

55. Fink K, Schwarz M, Feldbrügge L et al. Severe endothelial injury and subsequent repair in patients after successful cardiopulmonary resuscitation. Critical Care Medicine. 2010; 14 (3): R104.

56. Brittan M, Hunter A, Skinner EM et al. Vessel wall endothelial cells, but not circulating endothelial progenitor cells, have impaired function in premature coronary artery disease. Atherosclerosis. 2015; 241(1): e73-e73.

57. Marja J, VanBavel E, Sturk A et al. Microparticles in cardiovascular diseases. Cardiovascular Research. 2003; 59 (2): 277-287.

58. Lin CP, Lin FY, Huang PH et al. Endothelial progenitor cell dysfunction in cardiovascular diseases: role of reactive oxygen species and inflammation. Biomed Res Int. 2013; 2013:845037.

Информация об авторах:

Козлова Светлана Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая учебной частью кафедры внутренних болезней ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, научный руководитель терапевтического отделения ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Артемова Ирина Александровна, аспирант ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Svetlana N. Kozlova, MD, Professor, Head of Therapeutic Department, Federal Almazov North-West Medical Research Centre; Head of Studies of the Department of Internal Medicine Federal Almazov North-West Medical Research Centre;

Irina A. Artemova, Postgraduate of Internal Medicine Department Federa Almazov North-West Medical Research Centre.

ISSN 2311-4495
ISSN 2410-5155 (Online)
УДК 612.172.2:57.084

ВЛИЯНИЕ МАГНИТНОЙ БУРИ НА ПАРАМЕТРЫ ГЕМОДИНАМИКИ И ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У НОРМОТЕНЗИВНЫХ КРЫС ЛИНИИ WISTAR

Кузьменко Н.В.[1,2], Плисс М.Г. [1,2], Рубанова Н.С. [1,2], Цырлин В.А. [1,2]

[1] Федеральное государственное бюджетное учреждение «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия
[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:
Кузьменко Наталия Владимировна
ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России
ул. Пархоменко, д. 15 лит. Б, Санкт-Петербург, Россия, 194156.
E-mail: kuzmenko@niiekf.ru

Статья поступила в редакцию 19.01.2017 и принята к печати 10.02.2017.

Резюме

Цель работы состояла в изучении влияния геомагнитного шторма на параметры гемодинамики и вариабельность сердечного ритма у нормотензивных крыс. **Материалы и методы.** Исследования проводились на самцах линии Wistar. Проведена регистрация систолического артериального давления, межсистольного интервала и компонентов вариабельности сердечного ритма в дни геомагнитного шторма и в дни, когда магнитное поле Земли было спокойным. **Результаты.** Обнаружено, что в дни геомагнитного возмущения уменьшалась симпатическая составляющая спектра вариабельности сердечного ритма, при этом наблюдалась тенденция к увеличению артериального давления и учащению сердечного ритма. **Выводы.** Мы предполагаем, что уменьшение активности симпатической нервной системы способствует удержанию гемодинамических констант на нормальном уровне во время геомагнитной бури.

Ключевые слова: геомагнитный шторм, вариабельность сердечного ритма, симпатическая нервная система.

Для цитирования: Трансляционная медицина. 2017; 4 (1): 49–54.

INFLUENCE OF MAGNETIC STORM ON THE HEMODYNAMIC PARAMETERS AND HEART RATE VARIABILITY IN NORMOTENSIVE WISTAR RATS

Kuzmenko N.V. [1,2], Pliss M.G. [1,2], Rubanova N.S. [1,2], Tsyrlin V.A.[1,2]

[1] Federal Almazov North-West Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia
[2] Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:
Nataliy V. Kuzmenko
Federal Almazov North-West Medical Research Centre
Parkhomenko str. 15-B, Saint Petersburg, Russia, 194156
E-mail: kuzmenko@niiekf.ru

Received 19 January 2017; accepted 10 February 2017.

Abstract

Objective. The aim of this work was to examine influence of the geomagnetic storms on the hemodynamic parameters and heart rate variability in normotensive rats. **Design and methods.** Studies were conducted in Wistar male rats. Registration of systolic blood pressure, beat-to-beat interval and components of heart rate variability were conducted in the days of the geomagnetic storm and in the days, when the Earth's magnetic field was calm. **Results.** We found that, in the days of geomagnetic disturbances sympathetic component of spectrum of heart rate variability decreased, simultaneously we observed a tendency to increase of blood pressure and average of heart rate. **Conclusions.** We have suggested, that decline in activity of the sympathetic nervous system contributes to maintain of a normal level of hemodynamic constants during geomagnetic storm.

Key words: geomagnetic storm, heart rate variability, sympathetic nervous system.

For citation: Translyatsionnaya meditsina= Translational Medicine. 2017; 4 (1): 49–54.

Введение

Магнитное поле Земли и его вариации, возникающие в результате влияния солнечной активности на ионосферу планеты, относятся к естественным магнитным полям. Постоянное геомагнитное поле генерируется токами в жидком металлическом ядре, и изменяется в зависимости от географической широты. Так, вблизи экватора индукция геомагнитного поля составляет около 35мкТл, а вблизи полюсов 65 мкТл. Приход на Землю высокоскоростного потока солнечной плазмы (солнечного ветра), генерируемого нестационарными процессами на Солнце (выбросы корональной массы и корональные дыры), вызывает геомагнитную бурю [1].

G-индекс характеризует интенсивность геомагнитного шторма по воздействию вариаций магнитного поля Земли на людей, животных, электротехнику, связь, навигацию и т.д. Национальным управлением океанических и атмосферных исследований США (NOAA) в ноябре 1999 г. была введена пятибальная шкала силы магнитных бурь. Оригинал описания шкалы космической погоды находится на сайте: http://www.swpc.noaa.gov/noaa-scales-explanation [2]. По этой шкале магнитные бури подразделяются на уровни от G1 (слабые бури) до G5 (экстремально сильные бури). G-индекс соответствует Kp минус 4; то есть G1 соответствует Kp=5, G2 — Kp=6, G5 — K=9. K (индекс) — это отклонение магнитного поля Земли от нормы в течение трёхчасового интервала. Индекс был введён Дж. Бартельсом в 1938 г. и представляет собой значения от 0 до 9 для каждого трёхчасового интервала (0-3, 3-6, 6-9 и т.д.) [3]. Kp (планетарный индекс) вычисляется как среднее значение K-индексов, определённых на 13 геомагнитных обсерваториях, расположенных между 44 и 60 градусами

северной и южной геомагнитных широт. Его диапазон — от 0 до 9 [4].

К настоящему времени проведено большое количество исследований о влиянии геомагнитных бурь на здоровье людей. По результатам ряда работ наиболее значительное влияние флуктуации геомагнитного поля оказывают на функции сердечно-сосудистой и нервной систем [5, 6, 7]. Имеются и экспериментальные исследования на животных [8]. В целом результаты очень противоречивы [1].

Мы считаем, что исследование на животных проблемы влияния геомагнитных бурь на состояние организма дает более объективные результаты по сравнению с исследованиями на людях, так как полностью исключает психологический эффект от знания о происходящем природном явлении.

Цель настоящей работы — исследовать влияние геомагнитного возмущения на параметры гемодинамики и вегетативную регуляцию работы сердца у нормотензивных крыс линии Wistar.

Материалы и методы

Общие положения и протокол экспериментов

Работа была проведена на 39 лабораторных крысах-самцах линии Wistar массой 200-300 г. Крысы содержались в условиях свободного доступа к пище и воде. Условия проведения исследований были согласованы с Этическим комитетом Центра Алмазова, было получено разрешение на их проведение (№ 77 от 21.06.2010).

Для исследования влияния возмущения геомагнитного поля при магнитной буре на состояние сердечно-сосудистой системы нормотензивных животных были использованы результаты измерений параметров гемодинамики во время сильного геомагнитного возмущения 26.09.2011-29.09.2011 (данные Лаборатории рентгеновской астрономии Солнца ФИАН, сайт www.tesis.lebedev.ru, архив) [9]. Во время этой магнитной бури индекс отклонения магнитного поля Земли (Кр) колебался в диапазоне от 4 до 8 (рис. 1). Контролем служили данные измерений параметров гемодинамики, полученные за 22.09.2011 и 23.09.2011, когда геомагнитное поле было спокойным (Кр<2) [9]. Контрольная группа включила 10 крыс. В опытных группах были проанализированы: 8 животных — 27.09.2011 (в первые сутки геомагнитного возмущения), 8 животных — 28.09.2011 (во вторые сутки геомагнитного возмущения), 13 животных — 29.09.2011, когда магнитное возмущение пошло на спад и флуктуации геомагнитного поля не превышали Кр=4. Для того, чтобы исключить влияние привыкания к стрессу при хвостовом методе регистрации параметров гемодинамики, группы включали разных животных.

Регистрация параметров проводилась между 9 и 16 часами по Московскому времени в г. Санкт-Петербург (географические координаты $59^{o}57^{/}$ с.ш. и $30^{o}19^{/}$ в.д.). В месте проведения экспериментов величина индукции магнитного поля Земли составляла в среднем 48мкТл, замер был произведен отечественным трехкомпонентным магнитометром НВ0302.1А (0,1 — 100 мкТл) (ООО «Магнитные приборы», Санкт-Петербург). Влияние техногенных магнитных возмущений в процессе проведения экспериментов (электросварка, работа электрических машин и механизмов) отсутствовало.

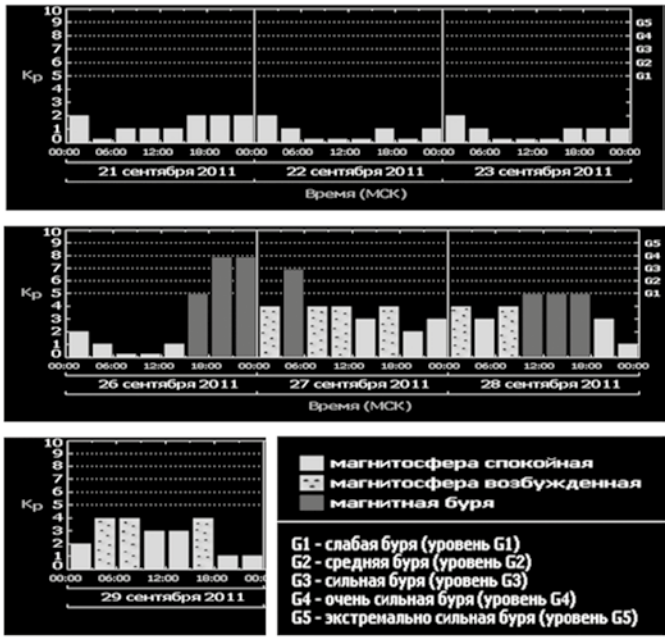
Уровень атмосферного давления в период эксперимента был достаточно стабильным и колебался в диапазоне 750-760 мм рт. ст. (данные получены с сайта https://www.gismeteo.ru/diary/4079/2011/9/) [10].

Неинвазивная регистрация параметров гемодинамики

Регистрация параметров гемодинамики проводилась с использованием компьютерной программы Chart на NIBP системе неинвазивного измерения кровяного давления (ADInstruments Pty Ltd, Австралия), включающей ML125 NIBP контроллер, MLT125R датчик пульса и хвостовую манжетку для крыс. Данная система позволяет регистрировать систолическое артериальное давление (АД сист.) на хвостовой артерии бодрствующей крысы, посаженной в рестрейнер. Также с помощью программы Chart рассчитывался МСИ (межсистольный интервал). Во время каждой регистрации параметры измерялись по 5-6 раз, а затем вычислялись их средние арифметические значения.

Для оценки изменений в вегетативной регуляции сердечно-сосудистой системы с помощью программы Chart проводился спектральный анализ ритма. Для проведения анализа брались «короткие» записи пульсаций продолжительностью в 40 секунд. Пульсограммы для анализа выбирались сразу же при регистрации параметров, с учетом того, чтобы животное во время регистрации было спокойным, не совершало бы груминг или каких-либо других движений. С помощью математических методов, принятых Европейским обществом кардиологии и Североамериканским обществом электростимуляции и электрофизиологии [11], проводился расчет в $мс^2$/Гц низкочастотной части спектра (НЧ: 0,15 — 0,8 ГЦ), используемой как маркер симпатической модуляции, и высокочастотной части спектра (ВЧ: 0,8 — 2,5 Гц), характеризующей вагусную активность. По соотношению НЧ/ВЧ делался вывод о симпато-вагусном балансе в регуляции работы сердца.

Рисунок 1.



Статистическая обработка

Сравнение результатов измерений проводилось с помощью оценки достоверности различий средних тенденций по критерию Стьюдента с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 97 (двухвыборочный t-тест). Результаты измерений представлены в виде «среднее значение ± стандартное отклонение».

Результаты

Геомагнитная обстановка в дни регистрации параметров гемодинамики представлена на рисунке 1 (данные Лаборатории рентгеновской астрономии Солнца ФИАН). Из рисунка 1 очевидно, что магнитное поле Земли 26.09.2011-29.09.2011 было возмущенным. Ночью 26.09.2011 и утром 27.09.2011 индекс флуктуаций геомагнитного поля достигал 7-8; 28.09.2011 максимальное значение Кр составило 5; 29.09.2011 магнитное поле оставалось слабо возмущенным, Кр в течение суток не превышал 4. В противоположность этому, 22.09.2011 и 23.09.2011 геомагнитное поле было спокойным, Кр<2.

Во время геомагнитной бури 26.09.2011-29.09.2011 мы наблюдали у нормотензивных крыс линии Wistar тенденцию к увеличению уровня АД, укорочению длины МСИ, а также уменьшению вариабельности сердечного ритма. Максимальные изменения наблюдались в первые сутки геомагнитного возмущения — значительно уменьшались НЧ и НЧ/ВЧ компоненты спектра вариабельности сердечного ритма (табл. 1). Во вторые и третьи сутки геомагнитного возмущения не было существенных различий между контрольной и опытной группами.

Обсуждение

Проведенные к настоящему времени исследования влияния геомагнитного возмущения на физиологические функции организма противоречивы. Группа ученых из Медицинского университета г. Каунаса наблюдала значительное увеличение частоты сердечных сокращений у пациентов с острым коронарным синдромом под влиянием геомагнитного возмущения [5]. В 2004 году в экспериментах на кроликах было обнаружено влияние геомагнитных бурь на циркадные колебания интракардиального давления [8]. Однако исследования статистики о смертности от инфарктов и инсультов в госпиталях США не выявили существенной разницы между днями с возмущенным и спокойным геомагнитным полем [12].

В наших исследованиях мы проанализировали влияние сильного геомагнитного шторма, произошедшего 26.09.2011-29.09.2011, на параметры гемодинамики и вариабельность сердечного ритма у нормотензивных крыс линии Wistar. По данным Лаборатории рентгеновской астрономии Солнца ФИАН данная магнитная буря началась вечером 26.09.2011. Ночью 26.09.2011 и утром 27.09.2011 индекс (Кр) флуктуаций геомагнитного поля достигал 7-8; 28.09.2011 максимальное значение Кр составило 5; 29.09.2011 магнитное поле оставалось слабо возмущенным, Кр в течение суток не превышал 4. По результатам нашего исследования в течение всего периода геомагнитного возмущения у крыс наблюдалась тенденция к увеличению уровня АД, укорочению длины МСИ, а также уменьшению вариабельности сердечного ритма, по сравнению с животными контрольной группы, измерения

Таблица 1. Влияние геомагнитного возмущения (26.09.11–29.09.11) на параметры гемодинамики и вариабельность сердечного ритма нормотензивных крыс.

Параметры	Контроль (n=10)	Геомагнитное возмущение		
		1 сутки (n=8)	2 сутки (n=8)	3 сутки (n=13)
АД сист., мм рт.ст.	121,0±12,8	131,0±10,8	122,6±6,5	130,1±8,8
МСИ, мсек	153,7±8,5	142,0±10,9	147,5±6,4	145,9±5,3
НЧ, мсек^2/Гц	33,2±26,0	**8,8±2,9 ***	18,3±10,7	15,5±7,8
ВЧ, мсек^2/Гц	108,3±35,0	84,4±17,6	86,4±5,5	75,2±9,3
НЧ+ВЧ, мсек^2/Гц	141,5±57,4	93,1±20,1	104,6±13,9	90,6±15,1
НЧ/ВЧ	0,28±0,46	**0,10±0,02 ***	0,21±0,12	0,23±0,11

Примечание: *— $p<0,05$ — достоверность относительно контроля. n — количество крыс в группе. АД сист. — систолическое артериальное давление, МСИ — межсистольный интервал, НЧ — низкочастотный компонент вариабельности МСИ, ВЧ — высокочастотный компонент вариабельности МСИ.

в которой были проведены 22.09.2011-23.09.2011, кода магнитное поле Земли было спокойным и Кр не превышал 2. Максимальные изменения тестируемых параметров мы наблюдали в первые сутки магнитного шторма (9-14 часов по Московскому времени 27.09.2011); нами было зарегистрировано существенное уменьшение НЧ и НЧ/ВЧ-компонентов спектра вариабельности сердечного ритма. Это свидетельствует об уменьшении симпатических влияний на работу сердца. Однако на 2-е, 3-и сутки после начала магнитной бури симпато-вагусный баланс восстанавливался до уровня, наблюдаемого у животных из контрольной группы.

Интересно отметить, что при уменьшении вариабельности сердечного ритма НЧ-компонент снижался в большей степени, чем ВЧ компонент. Подобное явление наблюдается также при денервации барорецепторных зон. Так, нами было показано, что денервация основных барорецепторных зон вызывает уменьшение компонентов спектра вариабельности сердечного ритма НЧ — на 82%, ВЧ — на 40%, НЧ/ВЧ — в 3 раза [13]. Некоторые исследователи связывают явление уменьшения, происходящее после двусторонней бароденервации, наряду с ВЧ-компонентом, также и НЧ-компонента, с тем, что активность блуждающего нерва отражают как НЧ, так и ВЧ части спектра вариабельности сердечного ритма [14]. Однако эксперименты с блокадой холинэргических рецепторов атропином демонстрируют практически полное исчезновение ВЧ-компонента спектра вариабельности сердечного ритма и только некоторое уменьшение амплитуды НЧ-компонента [15]. Мы полагаем, что, возможно, в значительном снижении именно НЧ-компонента при несущественном уменьшении ВЧ-компонента спектра вариабельности сердечного ритма заключается ключ к адаптации работы сердечно-сосудистой системы при возмущающих воздействиях, позволяющей удерживать АД на нормальном уровне.

Наши результаты согласуются с литературными данными. Так, Gmitrov J., Ohkubo C. сообщают о влиянии геомагнитного шторма на величину барорецепторного рефлекса [6]. А мониторинг сердечно-сосудистой функции космонавтов на станции «Мир» показал, что во время геомагнитных бурь наблюдается уменьшение вариабельности сердечного ритма [1]. Также исследования, проведенные японскими учеными в субарктических областях, продемонстрировали увеличение частоты сердечных сокращений и уменьшение вариабельности сердечного ритма у людей при естественных флуктуациях геомагнитного поля [7].

Обратная реакция параметров сердечного ритма была показана при экранировании геомагнитного поля в 40 раз [16]. В первые 2 дня экранирования было обнаружено существенное увеличение общего спектра вариабельности сердечного ритма и уменьшение частоты сердечных сокращений; в последующие 3 недели наблюдений не было различий между крысами контрольной и опытной групп. Было сделано предположение о влиянии состояния геомагнитного поля на вегетативную нервную систему, а также об адаптации организма к условиям ослабленного магнитного поля Земли.

Вероятно, изменения, происходящие в симпатическом и парасимпатическом компонентах вариабельности сердечного ритма и приводящие к изменению симпато-вагусного баланса, направлены на удержание гемодинамических констант на нормальном уровне при флуктуациях геомагнитного поля.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Ptitsyna NG, Villoresi G, Dorman LI, Iucci N, Tyasto MI. Natural and man-made low-frequency magnetic fields as a potential health hazar. Phys. Usp. 1998; 168 (7): 767-791. In Russian. [Птицина Н.Г., Виллорези Д., Дорман Л.И., Юччи Н., Тясто М.И. Естественные и техногенные низкочастотные магнитные поля как факторы потенциально опасные для здоровья (обзор). Успехи физ. Наук. 1998; 168 (7): 767-791].
2. Space weather prediction center national oceanic and atmospheric administration. http://www.swpc.noaa.gov/noaa-scales-explanation
3. Bartels J. Potsdamer erdmagnetische Kennziffern, 1 Mitteilung. Zeitschrift für Geophysik. 1938; 14: 68–78, 699–718.
4. Zabolotnay NA. Indixes of geomagnetic activity. Publishing house LKI, 2007. p. 88. In Russian. [Заболотная Н.А. Индексы геомагнитной активности. Изд ЛКИ, 2007. с. 88].
5. Venclviene J, Babarskiene R, Milvidaite I, Kubilius R, Stasionyte J. The effect of solar-geomagnetic activity during and after admission on survival in patients with acute coronary syndromes. Int J Biometeorol. 2014; 58(6): 1295-303.
6. Gmitrov J, Ohkubo C. Artificial static and geomagnetic field interrelated impact on cardiovascular regulation. Bioelectromagnetics. 2002; 23(5): 329-338.
7. Otsuka K, Cornélissen G, Weydahl A, Holmeslet B, Hansen TL, Shinagawa M, Kubo Y, Nishimura Y, Omori K, Yano S, Halberg F. Geomagnetic disturbance associated with decrease in heart rate variability in a subarctic area. Biomed Pharmacother. 2001; 55 (1): 51s-56s.
8. Chibisov SM, Cornélissen G, Halberg F. Magnetic storm effect on the circulation of rabbits. Biomed Pharmacother. 2004; 58 (1):S15-9.
9. Tesis. http://www.tesis.lebedev.ru/magnetic_storms.html?m=9&d=28&y=2011 (29 September 2011)
10. Gismeteo. https://www.gismeteo.ru/diary/4079/2011/9
11. American Heart Association. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Circulation. 1996; 93: 1043-1065.
12. Lipa BJ, Sturrock PA, Rogot F. Search for correlation between geomagnetic disturbances and mortality. Nature. 1976; 259(5541):302-4.
13. Kuzmenko NV, Pliss MG, Rubanova NS. Sympathetic activity and heat rate variability during experimental renovascular hypertension in intact and sinoaortic denervated rats. Bulletin of VA Almazov Centre. 2011; june: 31-38. In Russian. [Кузьменко Н.В., Плисс М.Г., Рубанова Н.С. Симпатическая активность и вариабельность сердечного ритма при экспериментальной реноваскулярной гипертензии у крыс с интактными и денервированными барорецепторными зонами. Бюл. ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова. 2011; июнь: 31-38].
14. Di Rienzo M, Parati G, Castiglioni P, Omboni S, Ferrari AU, Ramirez AJ, Pedotti A, Mancia G. Role of sinoaortic afferents in modulating BP and pulse-interval spectral characteristics in unanesthetized cats. Am J Physiol. 1991; 261(2): 1811-1818.
15. Ohnuki K, Moritani T, Ishihara K, Fushiki T. Capsaicin increases modulation of sympathetic nerve activity in rats: measurement using power spectral analysis of heart rate fluctuations. Biosci Biotechnol Biochem. 2001; 65(3): 638-643.
16. Kuzmenko NV, Surma SV, Stefanov VE, Vasilyeva OV, Shchegolev BF. The biological effects of a screen-weakened geomagnetic field on hemodynamic parameters of Wistar rats. Vestnik St. Petersburg University. 2013; 3 (2): 64-69. In Russian. [Кузьменко Н.В., Сурма С.В., Стефанов В.Е., Васильева О.В., Щеголев Б.Ф. Биологические эффекты воздействия ослабленного экранированием геомагнитного поля на гемодинамические параметры крыс линии Вистар. Вестник СпбГУ. 2013; 3 (2): 64-69].

Информация об авторах:

Кузьменко Наталия Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела экспериментальной физиологии и фармакологии ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, лаборатории биофизики кровообращения ГБОУ ВПО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России;

Плисс Михаил Гениевич**,** кандидат медицинских наук, заведующий отделом экспериментальной физиологии и фармакологии ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, заведующий лабораторией биофизики кровообращения ГБОУ ВПО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России;

Рубанова Наталия Сергеевна, заведующая виварием и младший научный сотрудник отдела экспериментальной физиологии и фармакологии ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, младший научный сотрудник лаборатории биофизики кровообращения ГБОУ ВПО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России;

Цырлин Виталий Александрович, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела экспериментальной физиологии и фармакологии ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, профессор кафедры фармакологии ГБОУ ВПО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, профессор кафедры фармакологии медицинского факультета СПбГУ.

Author information:

Natalia V. Kuzmenko, PhD, senior researcher of the Laboratory of experimental physiology, Federal Almazov North-West Medical Research Centre; Laboratory of Biophysics of blood circulation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia;

Mikhail G. Pliss, PhD, head of the Laboratory of experimental physiology and pharmacology, Federal Almazov North-West Medical Research Centre; head of the Laboratory of Biophysics of blood circulation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia;

Natalia S. Rubanova, the head of the vivarium, junior researcher of the Laboratory of experimental physiology and pharmacology, Federal Almazov North-West Medical Research Centre, junior researcher of the Laboratory of Biophysics of blood circulation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia;

Vitaliy A. Tsyrlin, MD, senior researcher of the Laboratory of experimental physiology and pharmacology, Federal Almazov North-West Medical Research Centre; professor at the Pharmacology department, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia.

ISSN 2311-4495
ISSN 2410-5155 (Online)
УДК 57.084:616-006.83:612.018

ПРОФИЛЬ ПОЛОВЫХ СТЕРОИДОВ НА НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПАХ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ САРКОМЫ 45 В ПЕЧЕНЬ У САМЦОВ КРЫС

Каплиева И.В., Франциянц Е.М., Трепитаки Л.К., Черярина Н.Д.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, Россия

Контактная информация:
Каплиева Ирина Викторовна
ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России
14-я линия, д.63,
Ростов-на-Дону, Россия, 344037
E-mail: kaplirina@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 20.02.2017 и принята к печати 12.03.2017.

Резюме

Актуальность. Половые гормоны участвуют в патогенезе рака репродуктивных органов, однако их роль в развитии других злокачественных нозологий практически не изучена. **Цель.** Изучение метаболизма половых гормонов в семенниках, простате, опухоли (ОП), метастазах (МТС) и сыворотке крови (СК) на ранних этапах метастазирования в печень. **Материалы и методы.** Работа выполнена на 28 белых крысах-самцах. В печени методом РИА определяли содержание эстрадиола (E_2), общего тестостерона (Тобщ), пролактина (ПРЛ), прогестерона (P_4), методом ИФА — свободного тестостерона (Тсв), эстрона (E_1), секс-стероид связывающего глобулина (ССГ) через 1–2 недели (до появления ОП в селезенке) и через 5 недель (до появления МТС в печени) после введения клеток ОП в селезенку. **Результаты.** Появлению ОП в селезенке предшествовало на 1-й неделе — увеличение E_1 (в 3,4 раза), Тсв (в 2,5 раза) и уменьшение P_4 (в 4,5 раза); на 2-й неделе — увеличение ПРЛ (в 1,7 раза), уменьшение — Тсв (в 3,4 раза). В сформированной ОП отмечалось увеличение E_1 (в 8,8 раза). Появлению МТС предшествовало увеличение E_2 (в 1,2 раза) и уменьшение P_4 (в 3,1 раза) в печени. **Выводы.** E_1 — основной элемент гормонального профиля первичной ОП. E_2 создает условия для формирования метастатического поля в печени, в рамках которого в последующем развиваются МТС.

Ключевые слова: метастазирование в печень, половые гормоны, крысы-самцы.

Для цитирования: Трансляционная медицина. 2017; 4 (1): 55–62.

PROFILE OF SEX STEROIDS AT EARLY STAGES OF LIVER METASTASIS FROM SARCOMA 45 IN MALE RATS

Kaplieva I.V., Frantsiyants E.M., Trepitaki l.K., Cheryarina N.D.

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Corresponding author:
Irina V. Kaplieva
Rostov Research Institute of Oncology
14 line, 63,
Rostov-on-Don, Russia, 344037
E-mail: kaplirina@yandex.ru

Received 20 February 2017 ; accepted 12 March 2017.

Abstract

Background. Sex hormones are involved in pathogenesis of cancer of the reproductive organs; however, their role in the development of other cancers is poorly studied. **Objectives.** Study of metabolism of sex hormones in the testes, prostate, tumor (TR), metastases (MTS) and blood serum (BS) at the early stages of liver metastasis. **Material and methods.** The study included 28 white out bred male rats. Levels of estradiol (E_2), total testosterone (T), prolactin (PRL) and progesterone (P_4) were studied in the liver by radioimmunoassay, and free testosterone (fT), estrone (E_1) and sex steroid-binding globulin(SSBG)were studied by ELISA 1-2 weeks (before TR occurrence in the spleen) and 5 weeks (before MTS occurrence in the liver) after the injection of TR cells into the spleen. **Results.** Appearance of TR in the spleen was preceded by increased E_1 (by 3.4 times) and fT (by 2.5 times) and decreased P_4 (by 4.5 times) in week 1 and increased PRL (by 1.7 times) and decreased fT (by 3.4 times) in week 2. Already formed TR showed E_1increase (by 8.8 times). Occurrence of MTS was preceded by increased E_2 (by 1.2 times) and decreased P_4 (by 3.1 times) in the liver. **Conclusions.**E_1isthe main element of the hormonal profile of primary TR. E_2creates conditions for the formation of the metastatic field in the liver where later MTS develop.

Key words: liver metastasis, sex hormones, male rats.

For citation: Translyatsionnaya meditsina= Translational Medicine. 2017; 4 (1): 55–62.

Список сокращений:

МТС — метастазы, ОП — опухоль, ПЖ — предстательная железа, ПЗм — параметастатическая зона, ПЗо — паратуморальная зона, P_4 — прогестерон, ПРЛ — пролактин, СК — сыворотка крови, ССГ — секс-стероид связывающий глобулин, Т — тестостерон, Тобщ — общий тестостерон, Тсв — свободный тестостерон, E_2 — эстрадиол, E_1 — эстрон.

Введение

Несмотря на то, что накоплен огромный клинический и экспериментальный материал, патогенез злокачественной патологии всё ещё до конца неясен. В последнее время акцент в его изучении делается на выявлении генетических мутаций, вызывающих развитие злокачественного процесса в организме, и нахождении онкомаркеров. В этом направлении сделаны серьёзные шаги. Найдены «сигнальные точки» диагностики семейных типов злокачественных опухолей (ОП), при которых генетические поломки передаются по наследству. В то же время не для всех ненаследственных онконозологий обнаружены специфические генетические метки или уже известные на сегодняшний день онкомаркеры «срабатывают» не в 100% случаев в плане диагностики того или иного онкологического заболевания. Хотя, несомненно, исследование геномных мутаций помогают в плане выбора тактики лечения и оценке прогноза заболевания пациентов с онкопатологией. Вместе с тем поломка генетического аппарата, способствующая развитию онкологического процесса, когда речь идет не о наследственной предрасположенности,

на наш взгляд, является вторичной причиной злокачественного перерождения, «почву» для которого создают определенные изменения обмена веществ, возникающие в организме в силу тех или иных причин. Гормональная система одной из первых начинает «реагировать» при воздействии различных неблагоприятных факторов на организм.

Участие половых гормонов в возникновении злокачественных опухолей органов репродуктивной системы и молочной железы было доказано давно. В настоящее время информация о механизме действия и метаболизме половых стероидов при злокачественной патологии расширена и дополнена. Найдены неопровержимые свидетельства того, что половые гормоны имеют ядерные рецепторы, то есть могут влиять непосредственно на ДНК клеток (генетический аппарат). Установлено, что наиболее опасными в плане канцерогенеза являются не сами эстрогены, а их метаболиты — эстраметы, особенно — 16α-OHE1 [1]. В клинических исследованиях выявлены изменения динамики половых гормонов в сыворотке крови (СК) при ОП, привычно не относящихся к гормоночувствительным, например, при колоректальном раке [2]. В этом плане особый интерес представляют процессы прогрессирования рака, сопровождающиеся метастазированием, например, метастазированием в печень.

Целью работы явилось изучение динамики половых гормонов в семенниках, предстательной железе (ПЖ), первичной ОП, локализованной в селезенке, метастазах (МТС) печени и СК на начальном этапе метастазирования в печень.

Материал и методы

Работа выполнена на 28 белых беспородных крысах-самцах массой 180–250 грамм. Крысы содержались на стандартном водно-пищевом режиме. Первая группа (контроль) — крысы с селезенкой, выведенной под кожу (7 штук), вторая группа (МТС1) — крысы через 1 неделю после введения клеток саркомы 45 (С-45) в селезенку (7 штук), третья группа (МТС2) — крысы через 2 недели после введения клеток С-45 в селезенку (7 штук), четвертая группа (МТС5) — крысы через 5 недель после введения клеток С-45 в селезенку (7 штук). МТС в печени у крыс получены по методике предложенной нами ранее [3]. Сроки исследования: 1–2 недели — предшествуют визуальному появлению ОП в селезенке, 5 недель — предшествует визуальному появлению МТС в печени. Крыс декапитировали на гильотине, все процедуры проводили в соответствии с международными правилами работы с животными (European Communities Council Directive, 86/609/EEC). Семенники, ПЖ, печень, селезенку (при отсутствии визуализации в ней ОП), ОП и паратуморальную зону (ПЗо) при визуализации выделяли на льду и готовили цитозольную фракцию на 0,1М калий-фосфатном буфере pH 7,4. Туловищную кровь собирали в сухие стерильные пробирки без консерванта и путем центрифугирования в холодовой центрифуге выделяли СК. Используя стандартные тест-наборы, исследовали радиоиммунным методом в тканях уровни эстрадиола (E_2), общего тестостерона (Тобщ), пролактина (ПРЛ) и прогестерона (P_4) (Иммунотех, Чехия); методом ИФА — содержание свободного тестостерона (Тсв) (ХЕМА, Россия), эстрона (E_1) (DBC, Канада), секс-стероид связывающего глобулина (ССГ) (Алкор-Био, Россия). Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи параметрического критерия Стьюдента на персональном компьютере посредством программы STATISTICA 10.0 и непараметрического критерия Вилкоксонна-Манна-Уитни. Достоверными считали различия между двумя выборками при $p<0,05$.

Результаты исследования

Через 1 неделю после интралиенального введения клеток С-45 в семенниках, селезенке, печени и СК увеличивался уровень Тсв соответственно в 1,4 раза, 2,5 раза, 2,9 раза и в 122 раза. При этом в семенниках в 1,9 раза увеличивалось и количество Тобщ (табл. 1–3). Концентрация E_1 в селезенке, ПЖ и у 50% животных в СК возрастала в 3,4 раза, в 4,2 раза и в 5,3 раза соответственно; в печени, напротив — уменьшалась в 2,0 раза (табл. 1–3). В селезенке, на фоне роста E_1, в 2,6 раза уменьшалось количество E_2 (табл. 2). В селезенке и печени практически равнозначно снижалось содержание P_4 — в 4,5 раза и в 4,4 раза соответственно, в то время как в семенниках количество P_4 увеличивалось в 16,6 раза относительно контроля (табл. 1, 2). В ПЖ в 1,5 раза увеличивался уровень ССГ (табл. 1). В СК уменьшалось количество ПРЛ и E_2 соответственно в 1,9 и 1,4 раза (табл. 3).

На 2-й неделе злокачественного роста в селезенке (перед выходом в ней ОП) на фоне сохраняющихся низких уровней P_4 и E_2, уменьшалось содержание Тсв и E_1 в 3,4 раза и в 3,6 раза соответственно, при этом количество Тсв становилось в 1,3 раза ниже контроля, а E_1 — достигало контрольных величин; в 1,7 раза относительно значений контрольной группы увеличивалось содержание ПРЛ (табл. 2). В печени, напротив, содержание ПРЛ уменьшалось — в 1,4 раза, а содержание P_4 и E_1 — увеличивалось в 4,3 раза и 1,6 раза соответственно относительно группы МТС1 и, тем самым, возвращалось к контрольному уровню. На фоне высокой концен-

трации Тсв в 13,0 раз, относительно контроля, увеличивалось количество Тобщ (табл. 2). В органах репродуктивной системы уменьшались уровни P_4: в ПЖ — в 4,9 раза, в семенниках — в 5,4 раза, относительно группы МТС1; и E_2: в ПЖ — в 1,5 раза, в семенниках — в 1,7 раза относительно контроля (табл. 1). В семенниках в 1,3 раза уменьшались концентрации всех форм тестостерона (Т), в то время как в ПЖ уровень Тобщ увеличивался и становился в 9,7 раза больше контрольных показателей и в 25,3 раза больше показателей крыс из группы МТС1. В ПЖ, на фоне увеличения Тобщ, в 1,1 раза уменьшался уровень ССГ (табл. 1). В СК количество Тсв уменьшалось в 10,4 раза, но оставалось в 11,8 раза больше контроля; уровни E_1 и E_2 увеличивались в 1,9 раза и в 1,2 раза соответственно, при этом E_1 становился в 6,6 раза больше контроля, а E_2 оставался в 1,1 меньше контроля (табл. 3).

Через 5 недель злокачественного роста в селезенке определялась сформированная ОП, гормональный спектр которой практически полностью соответствовал ткани селезенки на 2 неделе эксперимента, кроме E_1, уровень которого был значительно — в 8,8 раза, выше и Тсв, уровень которого был в 1,2 раза ниже, чем у крыс из группы МТС2 (табл. 2). В ПЗо концентрации E_1, E_2 и ПРЛ не отличались от предыдущего срока исследования и контрольных значений, в то время как содержание P_4 и Тсв уменьшалось: P_4 — в 2,8 раза, Тсв — в 2,1 раза, по сравнению с группой МТС2. В результате, количество P_4, Тсв и E_1 в ПЗо было соответственно в 3,4 раза, в 1,7 раза и в 7,0 раза меньше, чем в ОП (табл. 2). В печени — перед выходом в ней МТС, в 3,1 раза уменьшалось содержание P_4 и в 1,1 раза увеличивалось количество E_2. Концентрация обоих форм Т оставалась выше контроля (табл. 2). В семенниках и у части животных в ПЖ (60%) уменьшалось содержание P_4 соответственно в 1,9 раза и в 6,8 раза относительно предыдущего периода наблюдения, у другой части крыс (40%) уровень P_4 в ПЖ, напротив, увеличивался в 7,9 раз (табл. 1). В репродуктивных органах, на фоне низкого уровня E_2 — в 2,5 раза увеличивалось содержание E_1, до контрольных значений уменьшалось содержание Т и ССГ (табл. 1).

В СК увеличивались концентрации ПРЛ, P_4 и Тсв в 2,0 раза, в 2,2 раза и в 3,9 раза соответственно, при этом уровень ПРЛ оставался в 1,7 раза ниже контроля, а уровень Тсв становился в 46,3 раза выше контрольных значений (табл. 3). Содержание эстрогенов, напротив, уменьшалось: E_1 — в 4,8 раза — до контрольных значений, E_2 — в 1,3 раза, но, при этом, оставалось в 1,4 раза ниже контроля (табл. 3).

Обсуждение результатов

Через 1 неделю после интралиенального введения клеток С45 (МТС1) в селезенке нарастал уровень E_1, что могло быть обусловлено двумя механизмами: синтезом гормона de novo дислоцированными в селезенку опухолевыми клетками саркомы 45 или непосредственно спленоцитами (редукция P_4 на фоне роста E_1) и активацией процесса интралиенальной ароматизации Т, синтезированного как местно — в селезенке, так и в семенниках и поступившего в селезенку с током крови. Увеличенный уровень Тсв в печени мог пополняться и из селезенки, и из семенников. Однако, в отличие от селезенки, процесс ароматизации андрогенов в E_1 в печени тормозился (количество E_1 уменьшалось). Таким образом, основным отличием ткани, содержащей злокачественные клетки (на начальном этапе развития ОП), от ткани, их не содержащей — стал процесс ароматизации андрогенов с накоплением агрессивного в плане канцерогенеза E_1.

К особенностям функционирования репродуктивных органов в этот период можно отнести: усиление синтеза Т в семенниках и его приоритетное связывание с альбумином (на фоне роста Тобщ — концентрация ССГ не изменялась) и накопление ССГ и E_1 в ПЖ. С одной стороны известно, что уровень ССГ влияет на биодоступность тканей к половым гормонам и увеличение содержания ССГ в ПЖ могло способствовать «подготовке» ткани органа к более эффективному использованию Т. Установлено, что ССГ может модифицировать активность Т [5]. Нарастание концентрации ССГ в ПЖ могло происходить за счёт усиления его местного синтеза [6]. С другой стороны обнаружено, что эстрогены способны усиливать чувствительность железистого эпителия ПЖ к андрогенам. Увеличение уровня E_1 в ПЖ также могло быть обусловлено усилением его местного синтеза, вследствие стимуляции ароматазной активности в ПЖ низким уровнем E_2 в крови [7]. Известно, что ароматаза содержится преимущественно в клетках стромы ПЖ и обеспечивает локальный синтез эстрогенов (эстрадиола, эстрона, эстриола) из локальных форм андрогенов (5α-андростендиона, 5α- дигидротестостерона и 17-гидрокситестостерона) [8]. Оказывать влияние на функционирование ПЖ могла не только гипо-E_2-емия, но и гипо-ПРЛ-емия и гипер-Тсв-емия, так как известно, что ПРЛ и E_2, наряду с гормонами щитовидной железы, оказывают положительную модуляцию, а Т демонстрирует ингибирующий эффект на активность дейодиназы 1 типа, расположенной в ПЖ [9].

Через 2 недели эксперимента (МТС2) в селезенке, перед выходом в ней ОП, регистрировались низкие уровни Тсв (уменьшался), P_4 (низкие значения)

Таблица 1. Содержание половых гормонов (на гр. тк.) в репродуктивных органах на начальных этапах метастатического поражения печени

	Семенник					Предстательная железа			
	К	МТС1	МТС2	МТС5		К	МТС1	МТС2	МТС5
P_4 **(нг)**	**0,88** ±0,26	**14,60**$^{+}$ ±2,50	**2,72**$^{+,1}$ ±0,63	**1,44**^{1,2} ±0,24	P_4 **(нг)**	**1,76** ±0,70	**2,64** ±0,73	**0,54**^{1} ±0,19	**1,87**±0,87 **0,08**$^{+,1,2}$ ±0,05 **4,27**$^{+,1,2}$ ±0,48 **60% 40%**
E_1 **(нг)**	**0,71** ±0,12	**0,46** ±0,15	**0,45** ±0,16	**1,15**^{1,2} ± 0,22	E_1 **(нг)**	**0,33** ±0,09	**1,39**$^{+}$ ±0,37	**0,67** ±0,11	**1,65**$^{+,2}$ ± 0,15
E_2 **(нг)**	**1,99** ±0,10	**1,76** ±0,16	**1,14**$^{+}$ ±0,26	**1,49**$^{+}$ ± 0,14	E_2 **(нг)**	**1,84** ±0,08	**1,64** ±0,08	**1,21**$^{+}$ ±0,33	**1,56**$^{+}$ ± 0,08
Тсв **(нг)**	**0,72** ±0,02	**0,98**$^{+}$ ±0,07	**0,75**^{1} ±0,07	**0,67**^{1} ±0,07	Тсв **(пг)**	**31,95** ±9,55	**32,96** ±6,51	**42,69** ±2,64	**17,16**^{2} ± 4,90
Тобщ **(нг)**	**17,64** ±3,22	**33,58**$^{+}$ ±5,59	**26,46**^{1} ±3,34	**10,77**^{1,2} ±1,13	Тобщ **(нг)**	**0,26** ±0,07	**0,10** ±0,04	**2,53**$^{+,1}$ ±0,32	**0,13**^{2} ± 0,04
ССГ **(нмоль)**	**5,36** ±0,80	**7,29** ±0,36	**6,83** ±0,31	**5,00**^{1,2} ±0,26	ССГ **(нмоль)**	**5,36** ±0,80	**8,09**$^{+}$ ±0,29	**7,20**$^{+,1}$ ±0,18	**5,75**^{1,2} ± 0,46

Таблица 2. Содержание половых гормонов (на гр. тк.) в органах-реципиентах и/- донорах опухолевых клеток на начальных этапах метастатического поражения печени

	Селезенка					Печень			
	К	МТС1	МТС2	МТС5		К	МТС1	МТС2	МТС5
				ОП	ПЗо				
ПРЛ **(нг)**	**4,38** ±0,40	**5,39** ±0,43	**7,31**$^{+}$ ±0,91	**8,30** ± 2,33	**6,86** ±1,05	**5,57** ±0,72	**7,26** ±1,38	**5,30**^{1} ± 0,79	**6,62** ±1,05
P_4 **(нг)**	**12,51** ±2,60	**2,80**$^{+}$ ± 0,61	**1,85**$^{+}$ ±0,27	**2,30** ±0,76	**0,67**$^{+,1,2,o}$ ±0,20	**2,31** ±0,30	**0,53**$^{+}$ ±0,14	**2,28**^{1} ± 0,73	**0,73**$^{+,2}$ ±0,15
E_1 **(пг)**	**141,37** ±1,00	**478,80**$^{+}$ ±156,61	**132,60**^{1} ±10,92	**1164,5**$^{+,1,2}$ ±108,76	**166,20**^{1,o} ±25,85	**75,45** ±9,59	**37,43**$^{+}$ ±7,58	**61,22**^{1} ± 0,92	**54,74**^{1} ± 4,84
E_2 **(нг)**	**3,80** ±0,47	**1,47**$^{+}$ ±0,44	**2,00**$^{+}$ ±0,47	**1,63**$^{+}$ ±0,27	**1,54**$^{+}$ ±0,23	**1,70** ±0,10	**1,47** ±0,13	**1,78** ± 0,10	**1,92**$^{+,1,2}$ ± 0,03
Тсв **(пг)**	**6,58** ±0,87	**16,71**$^{+}$ ± 5,85	**4,90**$^{+,1}$ ±0,54	**3,99**$^{+,1,2}$ ±0,20	**2,29**$^{+,1,2,o}$ ±0,24	**1,31** ±0,10	**3,85**$^{+}$ ±0,60	**6,05**$^{+}$ ±1,90	**4,45**$^{+}$ ± 1,01
Тобщ **(нг)**	**0,28** ±0,09	-	-	**0,50** ±0,05	-	**0,01** ±0,00	**0,06** ±0,04	**0,13**$^{+}$ ± 0,02	**0,15**$^{+}$ ± 0,03

Примечание: + — достоверные отличия от контроля, 1 — достоверные отличия от группы МТС1, 2 — достоверные отличия от группы МТС2, о — достоверные отличия паратуморальной зоны от опухоли. К — контроль.

и увеличивалось содержание ПРЛ. Аналогичная динамика исследуемых гормонов была определена в нашей лаборатории в легких у самцов крыс на более раннем этапе опухолевого роста — через 1 неделю после внутривенного введения в подключичную вену взвеси опухолевых клеток С-45 [10]. Увеличение содержания ПРЛ в органах-реципиентах С-45 могло свидетельствовать о начавшихся процессах пролиферации опухолевых клеток. Известно, что ПРЛ вызывает усиление метаболизма клеток, а, сле-

Таблица 3. Содержание половых гормонов в сыворотке крови (в мл) на начальных этапах метастатического поражения печени

	К	МТС1	МТС2	МТС5
ПРЛ **(нг)**	**1,79** ±0,27	**0,95**$^{+}$ ±0,25	**0,54**$^{+}$ ±0,06	**1,07**$^{2,+}$ ±0,22
P_4 **(нг)**	**11,08** ±1,47	**8,79** ±1,01	**8,05** ±1,67	**17,35**^{1,2} ±2,37
E_1 **(пг)**	**9,22** ±0,29	**30,58**±10,86 ↙ ↘ **12,33**±0,02 **48,82** ± 6,48^{+} **50% 50%**	**60,90**$^{+,1}$ ±0,30	**12,79**^{2} ±1,34
E_2 **(пг/нг *10^{-3})**	**61,78** ±2,62	**44,29** $^{+}$ ±5,28	**55,00**$^{+,1}$ ±1,73	**43,60**$^{+,2}$ ± 4,95
Тсв **(нг)**	**0,04** ±0,01	**4,88**$^{+}$ ±0,34	**0,47**$^{1,+}$ ±0,23	**1,85**$^{+,2,1}$ ±0,53
Тобщ **(нг)**	**0,79** ±0,11	**1,61** ±0,57	**3,25** ±1,46	**1,12** ±0,17

Примечание: + — достоверные отличия от контроля, 1 — достоверные отличия от группы МТС1, 2 — достоверные отличия от группы МТС2. К — контроль.

довательно — стимулирует рост и пролиферацию тканей. В то же время предполагается участие ПРЛ в индукции и стимуляции ангиогенеза [11].

Дефицит P_4 и Тсв*, на фоне уменьшения* до контрольных значений уровня E_1 в селезенке через 2 недели после дислокации в неё опухолевых клеток, выявленный в данной работе, в сочетании с редукцией холестерина и ростом кортизола, обнаруженные нами в параллельно проводимом исследовании [12], указывали на сдвиг стероидогенеза в селезенке в сторону накопления основного стресс-реализующего гормона — кортизола. На эти процессы мог влиять ПРЛ, так как установлено, что уровень ПРЛ тесно связан с активностью ГГНО [13]. Биологический смысл снижения уровней P_4 и Т при формировании опухолевого поля может заключаться в том, что оба гормона способны ингибировать ранние события неоангиогенеза, и для инициации этого процесса необходимо удаление их из зоны интереса.

В семенниках также, как и в селезенке, замедлялся процесс синтеза Т, ускоренный на 1-й неделе опухолевого роста, при этом содержание всех форм Т возвращалось к контрольным значениям. Уменьшать продукцию Т в семенниках в этот период по механизму отрицательной обратной связи мог предшествующий (на 1-й неделе) рост E_1 в ПЖ [9]. В ПЖ, напротив, значительно увеличивалась концентрация Тобщ, при этом уровень Тсв не изменялся, а ССГ — уменьшался. Этот факт мог быть обусловлен поступлением в ПЖ предшественников Т из мест их синтеза, не относящихся к репродуктивной системе. Согласно интракринологической концепции, около 40% ДГТ в ПЖ млекопитающих образуется из слабых андрогенов (дегидроэпиандростерон, андростендион), секретируемых корой надпочечников [14]. В нашем случае синтезированный из более слабых предшественников Т, скорее всего, превращался не столько в ДГТ, сколько связывался с белками переносчиками, главным образом — с альбумином.

На 5-й неделе эксперимента (МТС5) — перед появлением МТС в печени основным гормональным фактором ОП, локализованной в селезенке, вновь оказался E_1, значительный уровень которого пополнялся, видимо, из нескольких источников: за счет синтеза E_1 de novo в ПЗо (редукция P_4 в ПЗо и рост E_1 в ОП); за счет E_1, синтезируемого в других тканях: в жировой или ткани репродуктивных органов, поступившего в кровь и захваченного оттуда опухолью (высокий уровень E_1 в семенниках, ПЖ и уменьшение уровня E_1 в СК); за счет ароматизации в ткани ОП Т, синтезированного местно и/или в других тканях (рост Тсв в СК, на фоне уменьшения уровня Тсв и Тобщ в семенниках и ПЖ).

К сходным признакам динамики гормонов в селезенке и печени перед выходом в них неоплазм, в первом случае — первичных, во втором — метастатических, можно отнести — активацию процессов синтеза кортизола, выявленную нами ранее [12], и эстрогенов: в печени — E_2, в селезенке — E_1 —

на 1-й неделе, с уменьшением до контрольных значений — на 2-й неделе, приводящую к истощению субстрата — холестерина и P_4. К отличительным признакам: в печени — высокий уровень Тсв, регистрируемый с первой недели развития ОП в селезенке; в селезенке — увеличение содержания ПРЛ и редукция Тсв.

Следовательно, E_2 с кортизолом создавали условия для формирования метастатического поля в печени, в рамках которого в последующем развивались МТС. Причем оба стероида на этом этапе уже синтезировались непосредственно в ткани печени *de novo* из холестерина. Известно, что синтезируемые локально в тканях стероиды, не попадая в кровоток, могут оказывать местный иммуносупрессивный эффект, тем самым способствуя инвазии опухолевых клеток и метастазированию [15].

В репродуктивных органах, как в печени и селезенке, происходила активация синтеза половых стероидов — Т, уровень которого в семенниках и ПЖ уменьшался ещё больше вследствие его связывания с ССГ и выбросом в кровь, и E_1.

Таким образом, период, предшествующий появлению первичной ОП в селезенке, характеризовался:

1. Активацией синтеза Т в репродуктивных органах (в семенниках — из холестерина, в ПЖ — из слабых андрогенов) и связыванием его преимущественно с альбумином, что способствовало увеличению уровня Тсв в СК.

2. Накоплением E_1 в органе-реципиенте опухолевых клеток — селезенке, ПЖ и СК вследствие усиления синтеза E_1 de novo в селезенке и/или стимуляции процессов ароматизации андрогенов в E_1 (селезенка, ПЖ) на фоне гипо-E_2-емии.

3. Изменением уровня ПРЛ: увеличением — в селезенке и уменьшением — в СК.

Период сформированной опухоли в селезенке и предшествующий выходу МТС в печени имел следующие особенности:

1. В репродуктивных органах: усиление синтеза E_1 и Т, приводящее к истощению их субстрата — P_4, и увеличение связывания Т с ССГ.

2. Накопление E_1 в ОП, за счёт поступления E_1 из ПЗо, где он преимущественно синтезировался *de novo,* и/или поступления E_1 из репродуктивных органов, вследствие усиления процессов ароматизации Т, и/или захвата E_1 из СК (нормализация высокого уровня E_1 в СК).

3. Нормализация увеличенного в селезенке уровня ПРЛ на фоне уменьшения выраженности гипо-ПРЛ-емии.

4. Накопление E_2 в печени вследствие усиления его местного синтеза на фоне ещё большего снижения уровня E_2 в СК, низких концентраций E_2 в репродуктивных органах, ОП и уменьшения его содержания в ПЗо селезенки.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Kiselev VI, Sidorova IS, Unanjan AL i dr. Giperplasticheskie processy organov zhenskoj reproduktivnoj sistemy: teorija i praktika. M.: Medpraktika-M, 2010. p. 468. In Russian [Киселев В.И., Сидорова И.С., Унанян А.Л. и др. Гиперпластические процессы органов женской репродуктивной системы: теория и практика. М.: Медпрактика-М, 2010. с.468].

2. Kit OI, Kozlova MB, Francijanc EM i dr. Kolorektal'nyj rak i polovye gormony: soderzhanie v krovi bol'nyh s odinochnym, recidivnym i pervichno-mnozhestvennym processom. Fundamental'nye issledovanija. 2014; 7-3: 517-521. In Russian [Кит О.И., Козлова М.Б., Франциянц Е.М. и др. Колоректальный рак и половые гормоны: содержание в крови больных с одиночным, рецидивным и первично-множественным процессом. Фундаментальные исследования. 2014, 7-3: 517-521].

3. Kit OI, Francijanc EM, Kaplieva IV i dr. Sposob poluchenija metastazov pecheni v jeksperimente. Bjul. jeksper.biol. i med. 2014; 157(6): 745-747. In Russian [Кит О.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В. и др. Способ получения метастазов печени в эксперименте. Бюл.экспер. биол. и мед. 2014, 157(6): 745-747].

4. Sánchez P, Castro B, Torres JM, et al. Bisphenol A modifies the regulation exerted by testosterone on 5 **α**-reductase isozymes in ventral prostate of adult rats. Biomed Res Int. 2013: 629235.

5. Li H, Pham T, McWhinney BC, et al. Sex Hormone Binding Globulin Modifies Testosterone Action and Metabolism in Prostate Cancer Cells. Int J Endocrinol. 2016, 2016:6437585.

6. Huang R, Ma Y, Holm R, et al. Sex hormone-binding globulin (SHBG) expression in ovarian carcinomas and its clinicopathological associations. PLoS One. 2013; 8(12): e83238

7. Tjuzikov IA, Kalinchenko SJu, Vorslov LO i dr. Rol' jestrogenov v muzhskom organizme. Chast' 2. Chastnaja klinicheskaja jendokrinologija i patofiziologija jestrogenov u muzhchin. Andrologija i genital'naja hirurgija. 2015; 1: 23-30. In Russian [Тюзиков И. А., Калинченко С. Ю., Ворслов Л. О. и др. Роль эстрогенов в мужском организме. Часть 2. Частная клиническая эндокринология и патофизиология эстрогенов у мужчин. Андрология и генитальная хирургия. 2015, 1: 23-30].

8. Tjuzikov IA, Kalinchenko SJu, Vorslov LO i dr. Rol' jestrogenov v muzhskom organizme. Chast' 1. Obshhaja i vozrastnaja jendokrinologija, fiziologija i patofiziologija jestrogenov u muzhchin. Andrologija i genital'naja hirurgija. 2014; 4: 8-12. In Russian [Тюзиков И. А., Калинченко С. Ю., Ворслов Л. О. и др. Роль эстрогенов в мужском организме. Часть 1. Общая и возрастная эндокринология, физиология и патофизиология эстро-

генов у мужчин. Андрология и генитальная хирургия. 2014, 4: 8-12].

9. Anguiano B, Lopez A, Delgado G, et al. Deiodinase type Deiodinase type 1 activity is expressed in the prostate of pubescent rats and is modulated by thyroid hormones, prolactin and sex hormones. J. Endocrinol. 2006; 190(2): 363 — 371.

10. Kosheleva ON, Francijanc EM, Komarova EF i dr. Rol' izmenenija gormonal'nogo statusa i aminergicheskoj sistemy gipofiza krys v formirovanii metabolicheskogo «opuholevogo polja» v rannie sroki perevivki opuholi v legkoe. Sib. Onkol. Zhur. 2009; Prilozhenie 1: 106-107. In Russian [Кошелева О. Н., Франциянц Е. М., Комарова Е. Ф. и др. Роль изменения гормонального статуса и аминергической системы гипофиза крыс в формировании метаболического «опухолевого поля» в ранние сроки перевивки опухоли в легкое. Сиб. Онкол. Жур. 2009, Прил.1:106-107].

11. Reuwer AQ, Nowak-Sliwinska P, Mans LA, et al. Functional consequences of prolactin signalling in endothelial cells: a potential link with ang-iogenesis in pathophysiology? J. Cell. Mol. Med. 2012; 16 (9):2035–2048.

12. Kaplieva IV, Francijanc EM, Trepitaki LK i dr. Osobennosti steroidnogo metabolizma u samcov krys na jetapah jeksperimental'nogo metastazirovanija v pechen'. ROZh. 2017; 3: 51-57. In Russian [Каплиева И.В., Франциянц Е.М., Трепитаки Л.К. и др. Особенности стероидного метаболизма у самцов крыс на этапах экспериментального метастазирования в печень. Российский онкологический журнал. 2017, 3: 51-57].

13. Antoni MH, Lutgendorf SK, Cole SW, et al. The influence of bio-behavioural factors on tumour biology: pathways and mechanisms. Nat. Rev. Cancer. 2006, 6(3):240-248.

14. Reznikov AG Gormony i rak: mehanizmy kancerogeneza, rosta i rezistentnosti k jendokrinnoj terapii (obzor literatury i sobstvennyh issledovanij). Zhurnal NAMN Ukraïni. 2014; 20(4): 426-438. In Russian [Резников А.Г. Гормоны и рак: механизмы канцерогенеза, роста и резистентности к эндокринной терапии (обзор литературы и собственных исследований). Журнал НАМН України. 2014, 20(4): 426-438].

15. Goncharov NP, Kacija GV Degidrojepiandrosteron: biosintez, metabolizm, biologicheskoe dejstvie i klinicheskoe primenenie (analiticheskij obzor); Andrologija i genital'naja hirurgija. 2015; 1: 13-25. In Russian [Гончаров Н. П., Кация Г. В. Дегидроэпиандростерон: биосинтез, метаболизм, биологическое действие и клиническое применение (аналитический обзор); Андрология и генитальная хирургия. 2015, 1: 13-25].

Информация об авторах:

Каплиева Ирина Викторовна, к.м.н., с.н.с., НИЛ изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России;

Франциянц Елена Михайловна, д.б.н., профессор, НИЛ изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России;

Трепитаки Лидия Константиновна, н.с., НИЛ изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России;

Черярина Наталья Дмитриевна, врач-лаборант, НИЛ изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России.

Author information:

Irina V. Kaplieva, PhD, senior researcher, Laboratory of Malignant tumor pathogenesis study, Rostov Research Institute of Oncology;

Elena M. Frantsiyants, MD, Dr. Sci., professor, Laboratory of Malignant tumor pathogenesis study, Rostov Research Institute of Oncology;

Lidia K. Trepitaki, researcher, Laboratory of Malignant tumor pathogenesis study, Rostov Research Institute of Oncology;

Natalia D. Cheryarina, physician assistant, Laboratory of Malignant tumor pathogenesis study, Rostov Research Institute of Oncology.

ISSN 2311-4495
ISSN 2410-5155 (Online)
УДК 577.1

ОЦЕНКА БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ ХИТОЗАНА ГИСТОХИМИЧЕСКОЙ РЕАКЦИЕЙ ПО ГРОКОТТУ

Журавский С.Г.[1,2], Юкина Г. Ю.[1], Паневин А.А.[1,2], Почкаева Е.И.[2], Скорик Ю.А.[2,3], Сонин Д.Л.[2]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия
[2] Федеральное государственное бюджетное учреждение «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия
[3] Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт высокомолекулярных соединений» Российской Академии наук, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:
Журавский Сергей Григорьевич
ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России
ул. Пархоменко, д. 15 лит. Б,
Санкт-Петербург, Россия, 194156.
E-mail: s.jour@mail.ru

Статья поступила в редакцию 06.02.2017 и принята к печати 23.02.2017.

Резюме

Представлен способ морфологической оценки биораспределения вводимых в организм наночастиц хитозана. На парафиновых срезах печени, легкого, головного мозга, селезенки крыс (сток Wistar, самцы, 250-300 г, n=4) проведена гистохимическая реакция серебрения по методу Грокотта после внутривенной инъекции суспензии частиц хитозана со средним размером около 100 нм (фракция от 15 до 200 нм составляла 90%). Аутопсийный материал получали спустя 2 часа после однократного введения 1 мл дисперсии с концентрацией хитозана 2 мг/мл. Впервые показано, что гистохимической реакцией можно выявлять наночастицы хитозана в клетках и тканях. Таким образом, окраска по Грокотту дает возможность оценивать биораспределение, механизм интернализации, биодеградацию, а также эффективность действия лекарственных веществ, переносимых с помощью хитозан-содержащих дисперсных объектов.

Ключевые слова: хитозан*, гистохимическое окрашивание, полимерные* наночастицы*,* биораспределение*,* метенамин Грокотта*.*

Для цитирования: Трансляционная медицина. 2017; 4 (1): 63–69.

EVALUATION OF CHITOSAN NANOPARTICLES BIODISTRIBUTION USING GROCOTT METHENAMINE SILVER STAINING

Zhuravskii S.G.[1,2], Yukina G.Yu.[1], Panevin A.A.[1,2], Pochkaeva E.I.[2], Skorik Y.A.[2,3], Sonin D.L.[2]

[1] Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia
[2] Federal Almazov North-West Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia
[3] Institute of macromolecular compounds, Saint-Petersburg, Russia

Corresponding author:
Sergei G. Zhuravskii
Federal Almazov North-West Medical Research Centre
Parkhomenko str. 15-B, Saint Petersburg, Russia, 194156
E-mail: s.jour@mail.ru

Received 06 February 2017 ; accepted 23 February 2017.

Abstract

We show the utility of morphological method for evaluation of biodistribution of chitosan nanoparticles administered into an organism. Grocott methenamine silver staining was conducted with paraffin-embedded sections of liver, lung, brain and spleen (male Wistar rats, 250-300 g, n = 4) obtained 2 hours after intravenous injection of 1 mL suspension of chitosan nanoparticles at a concentration of 2 mg/mL. The average size of chitosan nanoparticles was about 100 nm (fraction ranging from 15 to 200 nm was 90%). It has been shown for the first time that the histochemical reaction can be used to identify chitosan nanoparticles into cells and tissues. Thus, Grocott silver staining enables to evaluate the biodistribution, cellular internalization and biodegradation of chitosan-containing drug delivery nanosystems.

Key words: *c*hitosan, histochemical staining, Grocott methenamine silver staining, polymer nanoparticles, biodistribution

For citation: Translyatsionnaya meditsina= Translational Medicine. 2017; 4 (1): 63–69.

Список сокращений:
НЧХ — наночастицы хитозана.

Введение

Доклинические исследования *in vivo* систем адресной доставки на основе хитозана и его производных [1, 2] на определенном этапе сталкиваются с задачей получить представление об их местном и системном биораспределении. Для этого используют различные решения: радионуклидные методы [3-6], биолюминесценцию с люциферазой [7, 8], флуоресцентное окрашивание (флуоресцеином, родамином В) [9-12]. Однако эти методы не применяются широко, поскольку требуют соответствующего высокотехнологичного оборудования и дорогостоящих реагентов.

Поскольку хитозан представляет дезацетилированное производное хитина, мы предположили, что биораспределение хитозана в тканях можно визуализировать гистологическим способом для выявления хитин-содержащего мицелия грибов — возбудителей висцеральных микозов. Для этого используется ряд гистохимических реакций, наиболее известная из которых ШИК-реакция. В России распространена ее модификация по А.Л. Шабадашу, которую используют для выявления молодых (растущих) участков мицелия [13; с. 23, 228-234]. ШИК-реакция уже применялась для визуализации хитозана [14, 15], однако выраженность ложноположительного результата из-за неспецифичности субстрата окрашивания (внутриклеточные включения гликопротеинов, гликозаминогликанов, гликолипидов и ряда жирных кислот) делает метод малоинформативным.

Другой методикой гистохимического выявления мицелия является реакция серебрения по методу Грокотта [16]. В отличие от ШИК-реакции,

окраска по Грокотту имеет существенно большую специфичность. По этой причине, несмотря на распространение в патоморфологии молекулярной диагностики (иммуногистохимии, ПЦР в режиме реального времени, гибридизации *in situ*), этот метод до сих пор остается востребованным [17, 18]. Чувствительность этой реакции принципиально не уступает иммуногистохимическому анализу [19]. В ходе окрашивания хитин-содержащие клеточные стенки мицелия приобретают черный цвет, при этом фон представлен в зеленовато-голубоватых оттенках [16] (рис. 1 а, б).

Цель настоящей работы — оценить возможность выявления гистохимической реакцией серебрения по методу Грокотта наночастиц хитозана (НЧХ) в тканях экспериментального животного.

Материал и методы

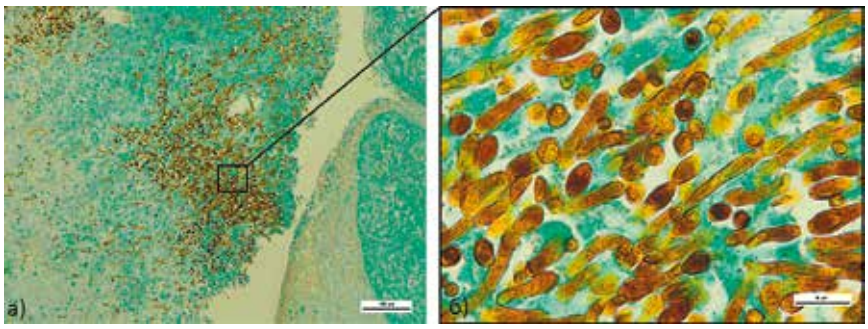
Исследование проводили на 4 самцах крыс стока Wistar массой 220-250 г, содержащихся в стандартных условиях вивария конвенциональной категории. Животных разделили на 2 группы: 1-я — контрольная группа (n=2) с введением физиологического раствора (0.9% NaCl); 2-я — группа (n=2) с введением суспензии НЧХ в физиологическом растворе. Образец НЧХ получали размолом исходного низкомолекулярного хитозана (448869, Sigma-Aldrich) в планетарной шаровой мельнице PM 100 CM в размольном стакане объемом 125 мл стальными шарами диаметром 5 мм. В размольный стакан помещали 5 г хитозана и 50 мл дистиллированной воды. Обработку проводили в течение 1 часа с частотой вращения 250 об/мин. После размола НЧХ отфильтровывали с помощью мембранного фильтра Omnipore фирмы Millipore с размером пор 0,2 мкм. Размер НЧХ определяли на лазерном дифракционном анализаторе размера частиц Mastersizer 3000 (Malvern Instruments, США). Средний размер НЧХ составил около 100 нм (фракция от 15 до 200 нм составляла 90%).

Суспензию НЧХ в физиологическом растворе с концентрацией хитозана 2.0 мг/мл (определена гравиметрически) вводили внутривенно, однократно, в объеме 1.0 мл. Данная концентрация суспензии НЧХ была взята как максимально возможная для получения наиболее интенсивного биораспределения, дальнейшее увеличение концентрации НЧХ приводит к нестабильности суспензии и выпадению осадка.

Инъекции проводили в хвостовую вену при соблюдении правил асептики и антисептики. Стерильность суспензии обеспечили ультрафиолетовым облучением в течение 2 часов. Манипуляции с животными выполняли в условиях анестезии «Золетилом» (6 мг/кг), вводимого внутрибрюшинно.

Выведение из эксперимента осуществляли через 2 часа после инъекции. Для гистологического анализа печень, легкие, головной мозг и селезенку фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине на фосфатном буфере (pH 7,4), обезвоживали в растворах этанола с возрастающей концентрацией и заливали в парафин по стандартной гистологической методике. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм для обзорной гистологической оценки окрашивали гематоксилином и эозином. Для проведения гистохимической реакции использовали оригинальный набор реактивов для окрашивания по методу Грокотта (ООО «Эргопродакшн», Россия). Для сравнения на гистологических срезах была поставлена ШИК-реакция при помощи соответствующего набора реагентов (ООО «Биовитрум», Россия). Характер биораспределения Ag-положительных включений в изучаемых органах оценивали визуально на световом микроскопе Nikon Eclipse Ni-U (Япония) при увеличении в 100, 400 и 1000 раз. Фотосъемку гистологических объектов выполняли в 5-7 полях зрения микроскопа, используя цифровую микрофотокамеру.

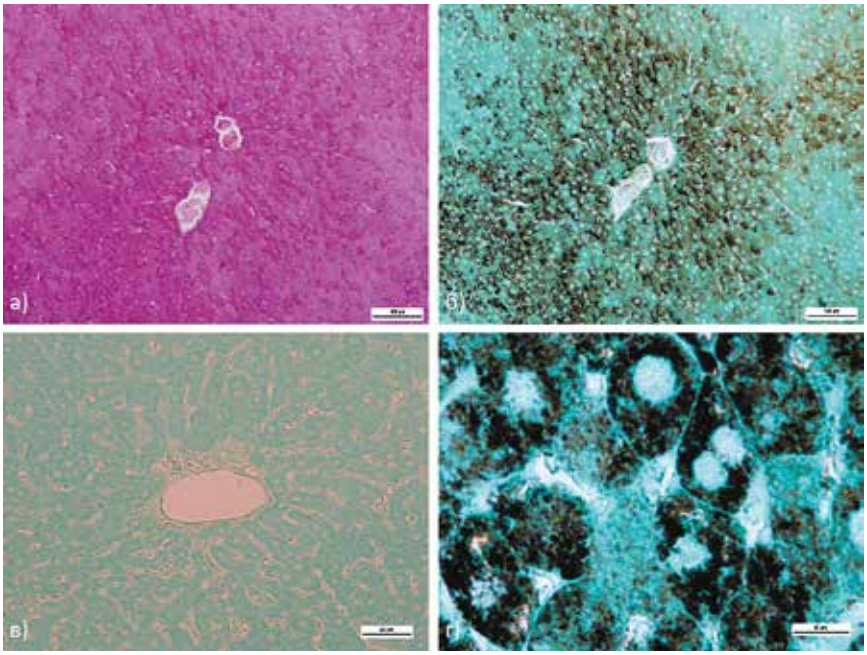
Рисунок 1.



а) Слизистая оболочка пищевода человека. Биопсия. Кандидозный эзофагит. Почкующиеся клетки и псевдогифы грибов Candida albicans на эзофагеальной язве. Окраска по Грокотту. Ув. × 100.

б) То же. Ув. × 1000.

Рисунок 2.



а) Печень крысы спустя 2 часа после введения наночастиц хитозана. Окраска ШИК- реакцией. Ув. × 100.
б) Печень крысы спустя 2 часа после введения наночастиц хитозана. Окраска по Грокотту. Ув. × 100.
в) Печень крысы. Интактное животное. Окраска по Грокотту. Ув. × 200.
г) Гепатоциты спустя 2 часа после введения наночастиц хитозана. Окраска по Грокотту. Ув. ×1000.

Результаты

Введенные внутривенно НЧХ выявляются в тканях с помощью гистохимической реакции по методу Грокотта. Визуально максимальная интенсивность окрашивания, спустя 2 часа после введения суспензии НЧХ, наблюдается в печени. Окрашенные включения выявлялись как в гепатоцитах, так и в клетках Купфера. Гепатоциты, участвующие в интернализации НЧХ, имеют равномерное светло-бежевое окрашивание цитоплазмы, их ядра при этом не визуализируются. В печеночных дольках четко видны зоны интернализации НЧХ по аргентофильным включениям (рис. 2 б). Иногда отложения окрашенного материала представлены в виде колец. Значительная часть клеток содержит крупные, нередко заполняющие всю цитоплазму, гранулы (рис. 2 г). Для сравнения предлагаем препарат ткани печени интактного животного (рис. 2 в).

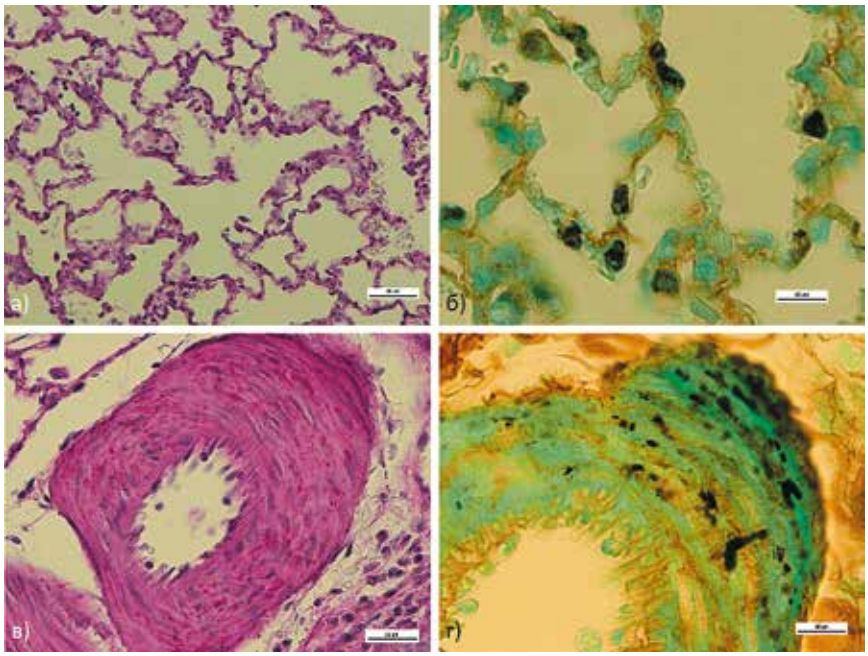
В легком аргентофильный субстрат представлен менее интенсивно. Он расположен преимущественно в интерстициальных макрофагах межальвеолярных перегородок (рис. 3 б). Одновременно в цитоплазме альвеолярных макрофагов на этом сроке наблюдаются более мелкие гранулы и в сравнительно меньшем количестве. На рис. 3 (а) представлена структура респираторного отдела легкого, демонстрирующая низкую информативность ШИК-реакции для выявления НЧХ. Особенностью биораспределения в легком НЧХ, окрашенных по методу Грокотта, на этом сроке стали крупные включения в адвентиции артерий (рис. 3 г). Неспецифическим объектом окрашивания здесь являются эластические и коллагеновые волокна стенок артерий, коллагеновые волокна в стенке бронхов, бронхиол и вокруг альвеол. Эти структуры окрашиваются в разные тона коричневого цвета, не достигая при этом насыщенного черного цвета.

Нервная ткань головного мозга, а также паренхима селезенки на этом сроке эксперимента по методу Грокотта не окрашиваются. В первом случае тканевая изоляция объясняется наличием гемато-энцефалического барьера. Понимание отсутствия Ag-положительных включений в селезенке требует проведения дополнительных исследований.

Обсуждение

Хитозан и его производные активно изучаются для решения задач направленной лекарственной доставки, биопротезирования, клеточного культивирования и пр. Рассматривая гистологические возможности анализа биораспределения хитозана *in vivo*, мы пришли к заключению, что оптимальной для этой задачи представляется гистохимическая методика окраски с метенамином серебра по Грокотту. Реакция известна в патологоанатомической диагностике для микроскопического выявления микрофлоры возбудителей глубоких микозов.

Рисунок 3.



а) Легкое крысы. Респираторный участок легочной паренхимы. Окраска ШИК-реакцией. Ув. × 200.

б) Легкое крысы. Интерстициальные макрофаги в альвелярных перегородках. Окраска по Грокотту. Ув. × 400.

в) Артерия легкого крысы. Имбибиция мышечного слоя окрашенными частицами хитозана. Окраска ШИК-реакция. Ув. × 400.

г) Артерия легкого крысы. Имбибиция мышечного слоя окрашенными частицами хитозана. Окраска по Грокотту. Ув. × 400.

Анализ системного биораспределения хитозана этим методом проводился впервые. Сравнение двух гистохимических реакций показало, что, в отличие от ШИК-реакции, серебрением по Грокотту получается достаточно контрастная на общем фоне визуализация включений (рис. 2 б и 2 г). Постановка экспериментов с разными сроками наблюдений и различными размерами частиц хитозана позволит проводить на таком материале морфометрический анализ. При этом возможно оценивать интенсивность целевого доступа по площади окрашенных клеточных зон, а по картине цитоплазмы (гомогенное окрашивание, присутствие мелких гранул или более крупных включений) делать представление о механизмах интернализации.

Преимуществом реакции по Грокотту оказывается существенно большая специфичность (рис. 2 б). Для сравнения, при ШИК-окрашивании печень в норме дает положительную реакцию из-за наличия включений гликогена, гликозаминогликанов и гликолипидов в гепатоцитах (рис. 2 а). Методика окрашивания по Грокотту подобрана для выявления хитин-содержащих объектов, чем минимизируется появление неспецифических локусов окрашивания, поскольку ткани ни в норме, ни в патологии (кроме случаев висцеральных микозов) не содержат объектов такой или подобной природы.

Метод Грокотта принципиально не уступает по своей наглядности в визуализации НЧХ флуоресцентным красителям (родамин Б) [9]. Немаловажно, что в случае серебрения получаются долговечные гистологические препараты. Это становится особенно актуальным при необходимости сохранять архивный материал, полученный в ходе доклинических исследований.

С помощью окраски по Грокотту можно оценивать не только биораспределение хитозана, но и характеризовать биодеградацию («период полувыведения») инкорпорируемых инъецируемых или имплантируемых хитозан-содержащих конструкций. Выявление среди клеток органов-мишеней, фиксирующих аргентофильные включения, клеток с морфологическими признаками некроза и апоптоза в органах-мишенях, может быть востребовано при скрининговых исследованиях токсичности хитозан-содержащих дисперсных систем доставки. Метод доступен для условий стандартно оснащенной гистологической лаборатории. Отметим, что результат данной реакции гистохимического окрашивания достигался также на материале влажного формалинового архива, которому на момент изготовления парафиновых блоков было около

1 года. Таким образом, для предложенного способа характеристики биораспределения и интернализации хитозана не требуется быстрота обработки полученного некропсийного материала.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Berezin AS, Lomkova EA, Skorik YA. Chitosan conjugates with biologically active compounds: design strategies, properties, targeted drug delivery (review). Russ. Chem. Bull. 2012; 61(4): 781-795. In Russian. [Березин А. С., Ломкова Е. А., Скорик Ю. А. Конъюгаты хитозана с биологически активными соединениями: стратегии конструирования, свойства, направленный транспорт к биомишени. Известия Академии наук. Серия химическая. 2012; 4: 778-795]
2. Kritchenkov AS, Andranovitš S, Skorik YA. Chitosan and its derivatives: vectors in gene therapy. Russ. Chem. Rev. 2017; 86(3): 231-239. [In Russian: Критченков А.С., Andranovitš S, Скорик Ю. А. Хитозан и его производные: векторы в генной терапии. Успехи химии. 2017; 86(3): 101-118].
3. Suzuki YS, Momose Y, Higashi N, et al. Biodistribution and kinetics of holmium-166-chitosan complex (DW-166HC) in rats and mice. J. Nucl. Med. 1998; 39(12): 2161-2166.
4. Seong SK, Ryu JM, Shin DH, et al. Biodistribution and excretion of radioactivity after the administration of 166Ho-chitosan complex (DW-166HC) into the prostate of rat. Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging. 2005; 32(8): 910-917.
5. Hwang H, Kwon J, Oh PS, et al. Peptide-loaded nanoparticles and radionuclide imaging for individualized treatment of myocardial ischemia. Radiology. 2014; 273(1): 160-167.
6. Clementino A, Batger M, Garrastazu G, et al. The nasal delivery of nanoencapsulated statins — an approach for brain delivery. Int. J. Nanomedicine. 2016; 11: 6575-6590.
7. Hwang DW, Jang SJ, Kim YH, et al. Real-time in vivo monitoring of viable stem cells implanted on biocompatible scaffolds. Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging. 2008; 35(10):1887-1898.
8. Mizuno T, Mohri K, Nasu S, et al. Dual imaging of pulmonary delivery and gene expression of dry powder inhalant by fluorescence and bioluminescence. J. Control Release. 2009; 134(2): 149-154.
9. Skorik YA, Golyshev AA, Kritchenkov AS, et al. Development of drug delivery systems for taxanes using ionic gelation of carboxyacyl derivatives of chitosan. Carbohydr. Polym. 2017; 162: 49-55.
10. Moraru AD, Costuleanu M, Sava A, et al. Intraocular biodistribution of intravitreal injected chitosan/gelatin nanoparticles. Rom. J. Morphol. Embryol. 2014; 55(3): 869-875.
11. Moraru AD, Costuleanu M, Costin D, et al. Iintraocular biodistribution of intravitreal injected fluorescent dexamethasone-chitosan nanoparticles in rabbit eyes. Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi. 2015; 119(2):484-90.
12. Hyung Park J, Kwon S, Lee M, et al. Self-assembled nanoparticles based on glycol chitosan bearing hydrophobic moieties as carriers for doxorubicin: in vivo biodistribution and anti-tumor activity. Biomaterials. 2006; 27(1): 119-126.
13. Tsinzerling AV. Sovremennyie infektsii. Patologicheskaya anatomiya i voprosyi patogeneza. SPb.: SOTIS, 1993. p. 363. In Russian [Цинзерлинг А. В. Современные инфекции. Патологическая анатомия и вопросы патогенеза. СПб.: СОТИС, 1993. с. 363].
14. Plánka L, Nečas A, Crha M, et al. Treatment of a bone bridge by transplantation of mesenchymal stem cells and chondrocytes in a composite scaffold in pigs: experimental study. Acta Chir. Orthop. Traumatol. Cech. 2011; 78(6): 528-536.
15. Tai BC, Du C, Gao S, et al. The use of a polyelectrolyte fibrous scaffold to deliver differentiated hMSCs to the liver. Biomaterials. 2010; 31(1): 48-57.
16. Grocott RG. A stain for fungi in tissue sections and smears using Gomori's methenamine-silver nitrate technic. Am. J. Clin. Pathol. 1955; 25(8): 975-979.
17. Zhang R, Wang S, Lu H, et al. Misdiagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: a clinical analysis of 26 immunocompetent patients. Int. J. Clin. Exp. Med. 2014; 7(12): 5075-5082.
18. Bernardeschi C, Foulet F, Ingen-Housz-Oro S, et al. Cutaneous Invasive Aspergillosis: Retrospective Multicenter Study of the French Invasive-Aspergillosis Registry and Literature Review. Medicine (Baltimore). 2015; 94(26): 1-9.
19. Ma L, Xu R, Shi J, et al. Identification of fungi in fungal ball sinusitis: comparison between MUC5B immunohistochemical and Grocott methenamine silver staining. Acta Otolaryngol. 2013; 133(11):1181-1187.

Информация об авторах:

Журавский Сергей Григорьевич — д.м.н., руководитель научно-исследовательской группы экспериментальной патоморфологии Центра экспериментального биомоделирования ИЭМ ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» МЗ РФ, ведущий научный сотрудник лаб. слуха и речи НИЦ «ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова»;

Юкина Галина Юрьевна — к.б.н., заведующая лабораторией патоморфологии НИЦ «ПСПбГМУ им. акад.

И. П. Павлова», доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии НИЦ «ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова»;

Паневин Алексей Александрович — младший научный сотрудник научно-исследовательской группы экспериментальной патоморфологии Центра экспериментального биомоделирования ИЭМ ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» МЗ РФ, аспирант лаб. слуха и речи НИЦ «ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова»;

Почкаева Евгения Игоревна — младший научный сотрудник лаборатории микроциркуляции и метаболизма миокарда Центра экспериментального биомоделирования ИЭМ ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» МЗ РФ;

Скорик Юрий Андреевич — к.х.н., заведующий лабораторией природных полимеров ИВС РАН, заведующий химико-аналитическим отделом ИЭМ ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова»;

Сонин Дмитрий Леонидович — к.м.н., заведующий лабораторией микроциркуляции и метаболизма миокарда Центра экспериментального биомоделирования ИЭМ ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» МЗ РФ.

Author information:

Sergey G. Zhuravskii, MD, DSc, Head of the Laboratory of Experimental Histopathology, Center of Experimental Biomodeling, Institute of Experimental Medicine, Federal Almazov North-West Medical Research Centre; Leading Researcher at the Laboratory of Hear and Speech, Research Center of the Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;

Galina Yu. Yukina, PhD, Head of the Laboratory of Pathomorphology, Research Center of Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; Associate Professor at the Histology, Cytology and Embryology Department, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;

Aleksey A. Panevin, Junior Researcher at the Laboratory of Experimental Histopathology, Center of Experimental Biomodeling, Institute for Experimental Medicine, Federal Almazov North-West Medical Research Centre; PhD Student at the Laboratory of Hear and Speech, Research Center of the Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;

Evgenia I. Pochkaeva, Junior Researcher at the Division of Microcirculation and Myocardial Metabolism, Center of Experimental Biomodeling, Institute of Experimental Medicine, Federal Almazov North-West Medical Research Centre;

Yury A. Skorik, PhD, Head of the Laboratory of Natural Polymers, Institute of Macromolecular Compounds of the Russian Academy of Sciences; Head of the Analytical Chemistry Division, Institute of Experimental Medicine, Federal Almazov North-West Medical Research Centre;

Dmitrii L. Sonin, MD, PhD, Head of the Division of Microcirculation and Myocardial Metabolism, Center of Experimental Biomodeling, Institute of Experimental Medicine, Federal Almazov North-West Medical Research Centre.