

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК 2016 № 2

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК 2016 № 2

ЗАСНАВАЛЬНИК – НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

Часопіс выдаецца са студзеня 1956 г.

Выходзіць чатыры разы ў год

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

Михайлов А. Н., Лукьяненко Т. Н. Объективные критерии оценки макро- и микроструктурных изменений позвоночно-двигательных сегментов у пациентов с шейным остеохондрозом	4
Ильин И. А., Малькевич В. Т. Повторная и отсроченная эзофагопластика в лечении карцином пищевода и пищеводно-желудочного перехода	15
Марцинкевич Е. В., Солтанов В. В. Влияние пробиотиков на морфофункциональное состояние сердца и толстой кишки крыс	23
Ватутин Н. Т., Шевелек А. Н., Дегтярева А. Э., Перуева И. А. Влияние антагонистов минералокортикоидных рецепторов на уровень артериального давления у пациентов с различной массой тела	30
Криворот К. А. Транспедикулярная фиксация нестабильных повреждений поясничного отдела позвоночника	38
Майбогин А. М., Недзьведь М. К., Курочкина А. И. Факторный анализ структурных изменений головного мозга при хронической инфекции, вызываемой вирусом гепатита С	45
Набебина Т. И., Ролевич А. И., Дубровский А. Ч., Поляков С. Л., Красный С. А. Прогностическое значение гистологических и молекулярно-биологических критериев при переходном-клеточном неинвазивном раке мочевого пузыря	50
Гончаров А. Е., Давидович Г. М., Карпов И. А., Дуж Е. В., Романова И. В., Титов Л. П. Дендритные клетки, моноциты и миелоидные супрессорные клетки периферической крови у пациентов с острой ВЭБ-инфекцией	61
Садовский Д. Н., Калачик О. В., Неровня А. М., Дмитриева М. В., Карапетян Г. М. Комплексная защита трансплантата почки	70

Нечипуренко Н. И., Василевская Л. А., Пашковская И. Д., Зобнина Г. В. Эффективность персонифицированного лечения пациентов с хронической ишемией головного мозга.....	77
Орлова Е. А., Лазарчук О. А., Кондрашев С. А. Энергетический статус и агрегационная функция консервированных тромбоцитов в альтернативных суспендирующих средах.....	87
Мацюк Я. Р., Барабан О. В. Морфофункциональные особенности плаценты крыс в предродовый период при экспериментальном холестазах.....	95

АГЛЯДЫ

Кувырков Е. В., Водопьянов П. А., Космачева С. М. Применение эмбриональных стволовых клеток человека: медицинские и биоэтические аспекты.....	102
Гичкун О. Е., Ярошенко Е. Б., Шевченко А. О. Трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток пациентам с рассеянным склерозом	110
Апанель Е. Н., Дривотинов Б. В., Головкин В. А., Войцехович Г. Ю., Мастыкин А. С. Принцип защиты кровоснабжения мозга	118

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

Александр Васильевич Сукало (К 65-летию со дня рождения)	127
---	-----

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ 2016 № 2

Серия медицинских наук

На русском, белорусском и английском языках

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,
свидетельство о регистрации № 393 от 18.05.2009

Тэхнічны рэдактар *В. А. Тоўстая*
Камп'ютарная вёрстка *Ю. А. Агейчык*

Здадзена ў набор 02.05.2016. Падпісана ў друк 16.05.2016. Выхад у свет 26.05.2016. Фармат 60×84¹/₈.
Папера афсетная. Друк лічбавы. Ум. друк. арк. 14,88. Ул.-выд. арк. 16,4. Тыраж 58 экз. Заказ 101.
Кошт нумару: індывідуальная падпіска – 102 900 руб.; ведамасная падпіска – 252 168 руб.

Выдавец і паліграфічнае выкананне:

Рэспубліканскае ўнітарнае прадпрыемства «Выдавецкі дом «Беларуская навука». Пасведчанне аб дзяржаўнай
рэгістрацыі выдаўца, вытворцы, распаўсюджвальніка друкаваных выданняў № 1/18 ад 02.08.2013.
ЛП № 02330/455 ад 30.12.2013. Вул. Ф. Скарыны, 40, 220141, Мінск.

© Выдавецкі дом «Беларуская навука»
Весці НАН Беларусі. Серыя медыцынскіх навук, 2016

PROCEEDINGS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MEDICINE SERIES 2016 N 2

FOUNDER IS THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

The Journal has been published since January 2004

Issued four times a year

CONTENTS

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

Mikhailov A. N., Lukyanenka T. N. Objective criteria of the assessment of macro- and microstructural changes in spinal motion segments in patients with cervical osteochondrosis	4
Ilyin I. A., Malkevich V. T. Repeated and delayed esophagoplasty in esophageal and gastroesophageal cancer treatment	15
Martsynkevich E. V., Soltanov V. V. Effect of administration of probiotics on the morphological and functional status of heart and colon of the rats	23
Vatutin M. T., Shevelok A. M., Degtiarova G. E., Perueva I. O. Effect of mineralocorticoid receptor antagonists on the arterial blood pressure level in patients with different body mass	30
Krivorot K. A. Transpedicular fixation of unstable injuries of lumbar spine	38
Maybogin A. M., Nedzvedz M. K., Kurochkina A. I. Factor analysis of structural changes of the brain in patients with chronic HCV infection	45
Nabebina T., Rolevich A., Dubrouski A., Polyakov S., Krasny S. Prognostic value of histological and molecular-biological characteristics in transitional-cell non-muscle invasive bladder cancer	50
Hancharou A. Y., Davidovich G. M., Karpau I. A., Duzh A. V., Ramanava I. U., Titov L. P. Peripheral blood dendritic cells, monocytes, myeloid-derived suppressor cells in patients with acute EBV-infection	61
Sadouski D. N., Kalachyk A. V., Nerovnya A. M., Dmitrieva M. V., Karapetsian R. M. Comprehensive protection of kidney graft	70
Nechipurenko N. I., Vasilevskaya L. A., Pashkouskaya I. D., Zobnina H. V. Effectiveness of personalized treatment of patients with chronic cerebral ischemia	77
Orlova Y. A., Lazarchuk O. A., Kondrashev S. A. Energy status and aggregation function of preserved platelets in alternative suspending media	87
Matsiuk Ya. R., Baraban O. V. Morphofunctional features of the placenta of rats in the prenatal period with experimental cholestasis	95

SURVEYS

Kuvyrkov E. V., Vodopyanov P. A., Kosmacheva S. M. Application of human embryonic stem cells: medical and bioethical aspects	102
Gichkun O. E., Yaroshenko E. B., Shevchenko A. O. Haematopoietic stem cell transplantation to patients with multiple sclerosis	110
Apanel E. N., Drivotinov B. V., Golovko V. A., Vaitsekhovich H. Yu., Mastykin A. S. Protective principle of blood supply to the brain	118

SCIENTISTS OF BELARUS

Aleksandr Vasilievich Sukalo (To the 65th Anniversary)	127
---	-----

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

УДК 616.711.1-073.7

А. Н. МИХАЙЛОВ¹, Т. Н. ЛУКЪЯНЕНКО^{1,2}

ОБЪЕКТИВНЫЕ КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ МАКРО- И МИКРОСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОЗВОНОЧНО-ДВИГАТЕЛЬНЫХ СЕГМЕНТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ШЕЙНЫМ ОСТЕОХОНДРОЗОМ

*¹Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Беларусь,
e-mail: sakura33@bk.ru*

²Гомельская областная клиническая больница, Гомель, Беларусь

На основании анализа результатов рентгенологического исследования шейного отдела позвоночника у 152 больных остеохондрозом установлены объективные критерии оценки макро- и микроструктурных деформаций тел позвонков и степени их минерализации, позволяющие диагностировать стадии дегенеративно-дистрофического процесса и решить вопросы лечения и медицинской реабилитации.

Ключевые слова: критерии оценки, макро- и микроструктурные изменения, позвоночно-двигательные сегменты, шейный остеохондроз.

A. N. MIKHAILOV¹, T. N. LUKYANENKA^{1,2}

OBJECTIVE CRITERIA OF THE ASSESSMENT OF MACRO- AND MICROSTRUCTURAL CHANGES IN SPINAL MOTION SEGMENTS IN PATIENTS WITH CERVICAL OSTEOCHONDROSIS

¹Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus, e-mail: sakura33@bk.ru

²Gomel Regional Clinical Hospital Institution, Gomel, Belarus

On the basis of the analysis of the results of radiological research of the cervical spine of 152 patients with osteochondrosis, the objective criteria of macro- and microstructural deformations in vertebrae and the degree of their mineralization are established, which allows one to diagnose the degenerative dystrophic process and to resolve the questions of treatment and medical rehabilitation.

Keywords: criteria for assessment, macro- and microstructural changes, spinal motion segments, cervical osteochondrosis.

Введение. Остеохондроз позвоночника – одно из самых распространенных хронических заболеваний человека. Своевременная и качественная диагностика остеохондроза шейного отдела позвоночника (ОШОП) зависит от алгоритма диагностики, выбора наиболее информативной методики лучевой визуализации, а также от квалифицированной оценки диагностических изображений позвоночно-двигательных сегментов (ПДС) врачом-специалистом. Вертеброневрологические поражения – самые распространенные заболевания человека, имеющие не только медицинскую, но и социальную значимость [1–4, 7, 11, 12, 16–23].

В международных обзорах распространенность боли в спине на момент обследования составляет 15–30 %, за месяц – 19–43, на протяжении жизни – около 60–80 % (J. Kraemer (2008) [35]). Согласно Т. Kohlmann, С. Schmidt (2005) [36], жалобы на боли в спине на момент обследования пациента составляют 35 %, а за год они могут достигать 70 % [34]. Эти цифры свидетельствуют о сопоставимости данных в мировой литературе, а различия между ними могут быть обусловлены лишь различиями в формулировке вопроса о боли в спине.

У лиц, страдающих ОШОП, под действием продолжительных нагрузок изменяется биомеханика и первоначальная форма элементов позвоночных сегментов, что приводит к изменению внутренней архитектоники кости, т. е. кость постепенно приспосабливается к новым статическим требованиям, изменяя свою внутреннюю структуру, костная ткань перестраивается, появляются участки остеопороза и остеосклероза. Постоянное воздействие разнообразных статических нагрузок на элементы ПДС ведет к изменению показателей минеральной плотности кости (МПК), объема и количества костных трабекул, соотношения кортикальной и губчатой тканей. Адаптация элементов ПДС к функциональным нагрузкам определяет уровень ремоделирования костной ткани, т. е. изменения первоначальной формы элементов ПДС под действием продолжительных нагрузок, согласно математическим законам, приводят к макро- и микроструктурным изменениям. Возможно, разница в патологической деформации элементов ПДС, сопровождающей развитие дегенеративно-дистрофического процесса на шейном уровне, обусловлена спецификой минерального обмена и изменениями костных структур, биомеханическими аспектами в развитии рентгенологической стадийности при дегенеративно-дистрофических изменениях шейного отдела позвоночника [2, 5–10, 12, 18, 19, 21, 24, 25].

Материалы и методы исследования. В учреждении «Гомельская областная клиническая больница» проведено комплексное обследование 152 респондентов в возрасте от 20 до 78 лет (средний возраст составил $50,1 \pm 12,7$ года) с клиническими проявлениями ОШОП (цервикальная дискалгия (цервикалгия), плече-лопаточный периартрит, шейно-черепной синдром (задне-шейный симпатический синдром), синдром позвоночной артерии (синдром вертебро-базиллярной артериальной системы), шейно-плечевой синдром, синдром «плечо–кисть», синдром передней лестничной грудной мышцы, синдром малой грудной мышцы и др.) и сформированы три группы пациентов: первая – пациенты со II стадией ОШОП ($n = 39$), вторая – пациенты с III стадией ОШОП ($n = 43$) и третья – пациенты с IV стадией ОШОП ($n = 70$).

Подготовка исходной информации была основана на применении общеклинических и инструментальных методов с целью верификации различий в группах и исключения случайных признаков, не влияющих на результаты прогнозирования заболевания.

Общеклинический метод предполагал сбор и анализ анамнестических данных пациентов обследуемой группы путем их опроса и предварительного обследования: возраст и пол пациентов, антропометрические данные, наличие вредных привычек, жалобы и анамнез заболевания.

Распределение пациентов по группам с учетом возраста и гендерного признака приведено в табл. 1, 2.

Т а б л и ц а 1. Распределение пациентов по группам с учетом их возраста

Группа	Среднее значение возраста \pm стандартное отклонение (SD)	Минимальный возраст	Максимальный возраст
1 (II стадия ОШОП)	$38,4 \pm 10,4$	20	66
2 (III стадия ОШОП)	$47,5 \pm 8,9$	29	64
3 (IV стадия ОШОП)	$58,3 \pm 9,6$	34	78

Т а б л и ц а 2. Распределение пациентов по группам с учетом гендерного признака

Группа	Пол	К-во пациентов	Частота, %*
1 (II стадия ОШОП)	М	11	25,7
	Ж	28	
2 (III стадия ОШОП)	М	15	28,3
	Ж	28	
3 (IV стадия ОШОП)	М	31	46,0
	Ж	39	

* Относительная частота признака и 95 %-ный доверительный интервал, рассчитанный для конкретной группы исследования (на основе точного значения *t*-критерия).

Пациентов с I стадией ОШОП в выборку не включали, так как данная стадия хорошо визуализируется при рентгенологическом исследовании (РИ) в виде отличительного рентгенологического признака – выпрямления шейного лордоза.

Если оценивать выборку в целом, то в исследовании приняли участие 57 (37,5 ± 8,4 %) мужчин и 95 (62,5 ± 8,4 %) женщин (относительная частота и 95 %-ный доверительный интервал рассчитаны на основе точного значения *t*-критерия). В соответствии с критерием Пирсона при анализе таблиц сопряженности можно отметить, что гендерное соотношение в группах исследования статистически не различается: $\chi^2 = 2,9384, p > 0,05$. Таким образом, по гендерному признаку группы являются достаточно сбалансированными – соотношение мужчин и женщин в них составляет 28,2 ± 17,2/71,8 ± 17,2, 34,9 ± 17,0/65,1 ± 17,0 и 44,3 ± 13,3/55,7 ± 13,3 % соответственно.

Среди пациентов количество курящих в группах варьируется в достаточно широких пределах. Можно отметить, что среди лиц с IV стадией остеохондроза удельный вес курящих составляет всего 17,1 % против 34,9–35,9 % в первой и второй группах (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Таблица сопряженности для признака «Курение»

Группа	К-во пациентов		Всего
	некурящих	курящих	
1	25 (64,10 ± 18,1 %)	14 (35,90 ± 18,1 %)	39
2	28 (65,12 ± 17,0 %)	15 (34,88 ± 17,0 %)	43
3	58 (82,86 ± 10,4 %)	12 (17,14 ± 10,4 %)	70
Итого	111	41	152

П р и м е ч а н и е. Указаны частоты и доверительные интервалы частот (на основе точного значения *t*-критерия).

Наиболее часто все пациенты жаловались на боли в шейном отделе позвоночника (116 человек, или 76,3 %). В первой группе наличие цервикалгии наблюдалось в 69 % случаев, тогда как во второй и третьей – в 79 % случаев. Цервикокраниалгия и краниалгия отмечались у 78 (51,3 %) человек, при этом распределение признака по группам было достаточно равномерным и варьировалось от 43,6 до 55,8 %. Среди обследуемых шейно-черепной синдром установлен у 18 (11,8 %) человек, причем чаще всего (20,5 %) он отмечался у пациентов со II стадией ОШОП, у лиц с III и IV стадиями он выявлен у 9,3 и 8,6 % соответственно. Цервикобрахиалгия (боли в шее, в области лопатки, в надплечье и плече) отмечалась у 70 (46,1 %) пациентов. У 95 (54,3 %) человек наблюдались вестибулярные расстройства. Жалобы на головокружение отмечали 62 (40,8 %) пациента. Снижение слуха выявлено у 26 (17,1 %) обследованных, а распределение показателей по группам колебалось от 20,5 % (у лиц со II стадией ОШОП) до 22,9 % (у лиц с IV стадией), шум в ушах отмечался в 49,1 % случаев.

Оценка антропометрических данных пациентов отражена в табл. 4.

Т а б л и ц а 4. Распределение роста и веса пациентов

Группа	25 % квартиль	Медиана	75 % квартиль
<i>Рост пациентов, см</i>			
1 (II стадия ОШОП)	164,0	168,0	172,0
2 (III стадия ОШОП)	162,0	165,0	174,0
3 (IV стадия ОШОП)	160,0	164,0	173,0
<i>Вес пациентов, кг</i>			
1 (II стадия ОШОП)	64,0	75,0	90,0
2 (III стадия ОШОП)	64,0	75,0	90,0
3 (IV стадия ОШОП)	72,0	80,5	90,0

Оценка длительности заболевания. Оценка длительности заболевания выполнена нами в два этапа. Этап I – оценка дебюта заболевания, т. е. первого обращения пациента. Этап II – длительность заболевания у пациентов при повторных обращениях: 1 – до года, 2 – от 1 года до 3 лет, 3 – свыше 3 лет.

Дебют заболевания. Распределение частоты дебюта заболевания в группах является достаточно вариабельным. Следует отметить тот факт, что подавляющее большинство пациентов (от 66,7 % в первой группе до 83,7 % во второй группе) обращались не в первый раз.

Длительность заболевания. В первой группе преобладали пациенты с длительностью заболевания до 1 года (53,8 %), во второй и третьей группах – с длительностью заболевания свыше 3 лет (69,4 и 67,9 % соответственно).

Методы лучевой диагностики. Инструментальные методы выполнены в рентгеновском отделении учреждения «Гомельская областная клиническая больница» и предполагали использование таких методов лучевой диагностики, как РИ, рентгеновскую компьютерную томографию (РКТ) и рентгеновскую количественную компьютерную томографию (РККТ) с оценкой соответствующих показателей.

Рентгенологическое исследование. РИ шейного отдела позвоночника выполнено на рентгеновских диагностических аппаратах Multix Pro (Siemens, Германия), «Космос Универсал Томо» (ООО «Драйв», Республика Беларусь).

Данный способ предполагает РИ шейного отдела позвоночника в прямой и боковой проекциях.

Рентгенографию шейного отдела позвоночника в боковой проекции выполняют в положении пациента сидя на стуле или в горизонтальном положении, плечи опущены вниз, сагиттальная плоскость головы и шеи перпендикулярна плоскости стола и параллельна плоскости кассеты (используют кассету 18×24 см, малый фокус, диафрагму 25 см, отсеивающую решетку с соотношением 12:1, расстояние фокус – пленка – 115 мм); рентгенограмму – с задержкой дыхания (напряжение 65 кВ, сила тока 10 мА·с).

Рентгенографию шейного отдела позвоночника в прямой проекции выполняют в положении пациента в вертикальном положении сидя на стуле или в горизонтальном положении со слегка опрокинутой назад головой, срединная сагиттальная плоскость головы и туловища перпендикулярна плоскости стола, центральный луч направляют по срединной плоскости краниально под углом 10–15° (в зависимости от степени изгиба шеи) с центровкой между верхним краем грудины и щитовидным хрящом (используют кассету 18×24 см, малый фокус, диафрагму 25 см, отсеивающую решетку с соотношением 12:1, расстояние фокус – пленка – 115 мм); рентгенограмму – с задержкой дыхания (напряжение 65 кВ, сила тока 10 мА·с).

Рентгеновская компьютерная томография. РКТ шейного отдела позвоночника выполнена на компьютерном томографе Light Speed 16 Pro (General Electric Medical Systems, США).

Способ осуществляется следующим образом: перед рентгеновским компьютерным сканированием шейного отдела позвоночника вводят паспортные и антропометрические данные в компьютер (Ф.И.О., дату рождения, пол, рост, массу тела пациента), подготавливают пациента и зону интереса к сканированию (предварительно снимают зубные протезы, очки, украшения, расстегивают одежду с молниями, пуговицами и укладывают его на стол рентгеновского компьютерного томографа в положении лежа на спине в комфортном положении, головой к апертуре Гентри, руки приводят вдоль тела, при необходимости применяют тягу вниз, выполняют локализирующую топограмму шейного отдела позвоночника в прямой и боковой проекциях, планирование зоны сканирования с целью получения томограмм в аксиальной плоскости (зона пораженного сегмента и прилежащих сегментов) при многослойном сканировании: коллимация среза 1,25 мм, питч более 1, по протоколу сканирования C-spine, режимы сканирования (кВ, мА), запрограммированные производителем, устанавливаются автоматически. Выбор окна просмотра: костный – W/L = 2000/400 (при остеопорозе W/L = 1500/200); мягкотканый W/L = 300/60 [13–15, 18, 23].

Рентгеновская количественная компьютерная томография. РККТ шейного отдела позвоночника проведена на компьютерном томографе Light Speed 16 Pro (General Electric Medical Systems, США) с целью анализа рентгеноденситометрических показателей костных структур позвоночных сегментов и оценки МПК (программное обеспечение системы денситометрии и аналитических процедур изображения измерения МПК (quantitative computed tomography (QCT-5000) Bone densitometry procedures for the measurement of bone mineral density (BMD))).

Способ осуществляется следующим образом: перед рентгеновским компьютерным сканированием шейного отдела позвоночника вводят паспортные и антропометрические данные в компьютер (Ф.И.О., дату рождения, пол, рост, массу тела пациента), подготавливают пациента и зону интереса к сканированию (предварительно снимают зубные протезы, очки, украшения, расстегивают одежду с молниями, пуговицами и укладывают его на стол рентгеновского компьютерного томографа в положении лежа на спине в комфортном положении, головой к апертуре Гентри, руки приводят вдоль тела, при необходимости применяют тягу вниз, используют эталонный стандарт (специальный калибровочный фантом), который располагают на столе томографа под зоной интереса, устанавливают высоту стола 130 мм, выполняют локализующую топограмму шейного отдела позвоночника в прямой и боковой проекциях, планируют аксиальные сканы толщиной 10 мм через центры позвонков С2–С7, при этом угол Гентри устанавливают параллельно замыкательным пластинкам тел позвонков, проводят сканирование с напряжением 120 кВ, силой тока 120 мА, затем на полученных аксиальных сканах определяют рентгеноденситометрические показатели в единицах объемной плотности – мг/см³ эквивалента костного минерала гидроксиапатита кальция, в условных единицах Хаунсфилда (НУ) по шкале Хаунсфилда, T- и Z-критерии с построением кривой МПК и ее графическим отображением [13, 18, 21].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 7.0 с предварительной проверкой соответствия рассматриваемых признаков нормальному распределению по критерию Колмогорова–Смирнова, Лиллиефорса, критерию Шапиро–Уилка. К количественным признакам, имеющим нормальное распределение, применяли параметрические методы и использовали *t*-критерий Стьюдента. Признаки, имеющие отличное от нормального распределение, оценивали непараметрическими методами и отражали в виде медианы и интерквартильного диапазона. За уровень статистической значимости принимался $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В соответствии с классификацией И. С. Абельской и соавт. [2] выделяют основные и отличительные признаки в стадиях ОШОП, которые характеризуют его патологическую биомеханику: при I стадии ОШОП отмечается выпрямление физиологического лордоза; при II стадии – нестабильность в позвоночно-двигательном сегменте (ПДС) с развитием в нем подвывиха и торсии позвонков, снижение высоты межпозвонкового диска (МПД) I степени (высота пораженного МПД равна высоте вышележащего МПД); при III стадии – склероз замыкательных пластинок и субхондральный склероз, краевые костные разрастания, спондилоартроз, сужение межпозвонковых отверстий и позвоночного канала, снижение высоты МПД II степени (высота пораженного МПД на 1/4 меньше вышележащего МПД); при IV стадии – склероз замыкательных пластинок и субхондральный склероз, массивные задние остеофиты, спондилоартроз, деформирующий ункоартроз, значительное сужение МПО и позвоночного канала, снижение высоты МПД III степени (высота пораженного МПД в 2 раза меньше вышележащего МПД).

Рентгенологический метод исследования шейного отдела позвоночника является основным. Обзорные рентгенограммы производятся в двух взаимно перпендикулярных плоскостях, а также в двух косых проекциях. Кроме обычных снимков у некоторых пациентов, по показаниям, выполняли функциональные рентгенограммы – при максимальном сгибании и разгибании. Полученные снимки дают возможность оценить состояние каждого ПДС в отдельности, определить его блокаду или нестабильность [1–3, 9, 12, 19, 30].

В норме при максимальном сгибании вершина выпуклости кзади находится на уровне С4–С5 МПД. Позвонок Th1 фиксирован и не меняется. Тело каждого шейного позвонка смещено вперед на 1–2 мм по отношению к нижележащему позвонку. Остистые отростки расположены почти на равном расстоянии друг от друга [2, 12, 19, 30].

При наличии остеохондроза при максимальном разгибании шеи тела позвонков образуют дугу выпуклостью вперед с вершиной на уровне С5–С6. Задняя поверхность тел образует вогнутую линию. Тело вышележащего позвонка смещено по отношению к нижележащему. Остистые отростки сближены. Межпозвонковые отверстия сужены. При блокаде взаимоотношение между двумя соседними позвонками не меняется, а при нестабильности возникает усиленная подвижность их вплоть до соскальзывания одного из позвонков по отношению к другому [1–3, 8, 9, 12, 19, 30].

Рентгенологический метод позволяет определить изменение плотности костной ткани лишь в случае ее уменьшения на 30–40 %. Губчатая костная ткань по сравнению с кортикальной костью имеет более высокий метаболизм и раньше подвергается изменениям. Скорость минерального метаболизма в губчатой ткани составляет 20–25 %, в кортикальной ткани – 1–3 %. Определение параметров кости, включая количественную оценку макроструктуры (геометрия кости) и микроструктуры (объем, количество костных трабекул) дает более четкое, объективное и достоверное представление об архитектонике костных структур [5, 6, 13, 20, 21, 23, 25, 26, 32].

Методы РКТ и РККТ позволяют визуализировать макро- и микроструктурные изменения элементов ПДС при шейном остеохондрозе как качественно, так и количественно с оценкой рентгеноденситометрических показателей (в условных единицах Хаунсфилда (НУ) по шкале Хаунсфилда, единицы которой отражают степень абсорбции рентгеновского излучения тканями организма и являются сопоставляемым показателем, а также показателями количественного анализа МПК в единицах объемной плотности – мг/см³ эквивалента костного минерала гидроксиапатита кальция, *T*- и *Z*-критериев с построением кривой МПК и ее графическим отображением) [13–23, 29, 31–33, 37–39].

Многочисленные воздействия в точках приложения на элементы ПДС приводят, соответственно, к изменению в типе и величине нагрузки на различные анатомические области в пределах каждого позвонка, а с учетом физиологического лордоза шейного отдела позвоночника эта нагрузка на разных уровнях этого отдела, вероятно, будет отличаться. Соответственно, архитектура костных структур позвоночных сегментов должна изменяться не только в пределах отдельного позвонка, но и в зависимости от анатомических особенностей уровня позвоночника [13–18].

При анализе показателя МПК (мг/см³) у пациентов с ОШОП нами установлено, что его значение от уровня С3 к уровню С4 позвонка возрастает, а от уровня С5 и дистальнее снижается, достигая минимального значения на уровне С7, что может свидетельствовать об изменении точек и направления воздействия нагрузки на элементы ПДС в связи со смещением центра нагрузки и выпрямлением шейного лордоза (табл. 5) [13, 18, 20].

Т а б л и ц а 5. Минеральная плотность кости (мг/см³ эквивалента костного минерала гидроксиапатита кальция) позвонков шейного отдела позвоночника у пациентов с ОШОП по данным РККТ

Минеральная плотность позвонка	25 % квартиль	Медиана	75 % квартиль
С2	227,9	269,1	315,2
С3	251,9	284,5	323,3
С4	256,3	300,1	337,5
С5	252,5	298,4	342,0
С6	230,8	268,4	301,9
С7	197,4	225,7	259,2
Общая минеральная плотность	239,7	276,8	310,6

Макроструктурные изменения. Объективные критерии оценки макроструктурных изменений ПДС у пациентов с шейным остеохондрозом позволяют более точно диагностировать его стадии по результатам оценки рентгенологических симптомов, полученных на рентгенограммах в прямой и боковой проекциях, улучшить качество диагностики шейного остеохондроза, принимать квалифицированные решения о необходимости направления пациента для выполнения других высокоинформативных методов лучевой визуализации для более глубокого, детального и точного изучения структуральных изменений, изменений микро- и макроархитектоники, деформационных изменений элементов позвоночных сегментов с учетом биомеханических аспектов и специфики минерализации костной ткани при ОШОП уже на этапе рентгенологического исследования и своевременно назначить соответствующее лечение и комплекс медицинских реабилитационных мероприятий [12, 13–23, 30, 35].

I стадию шейного остеохондроза диагностируют при определении отличительного признака – выпрямления шейного лордоза, деформации тел позвонков при этом не наблюдается.

Недостатком же интерпретации полученных изображений при диагностике II–IV стадий шейного остеохондроза является то, что имеется определенная сложность оценки рентгенологических симптомов, которые характеризуют изменения элементов ПДС в рентгеновском изображении при шейном остеохондрозе. Это обусловлено тем, что используются преимущественно качественные показатели, оценка которых зависит от квалификации врача, опыта, его добросовестности, а также от качества выполненных рентгенограмм и наличия субъективности восприятия получаемых изображений.

Поставленная задача решается способом диагностики II–IV стадий шейного остеохондроза [27], заключающимся в рентгенологическом исследовании шейного отдела позвоночника, при котором выполняют рентгенографию шейного отдела позвоночника в прямой и боковой проекциях, а затем, используя данные рентгенограмм и анамнеза, определяют значение K :

$$K = \frac{\exp(-14,0691 + 0,1059X_1 + 4,038X_2 + 1,3158X_3 + 4,9666X_4)}{1 + \exp(-14,0691 + 0,1059X_1 + 4,038X_2 + 1,3158X_3 + 4,9666X_4)},$$

где X_1 – возраст, X_2 – дебют заболевания (1 – первое обращение, 0 – повторные обращения), X_3 – длительность заболевания (0 – впервые, 1 – до 1 года, 2 – от 1 года до 3 лет, 3 – свыше 3 лет), X_4 – степень снижения высоты межпозвонкового диска (0 – отсутствует, 1 – первая степень, 2 – вторая степень, 3 – третья степень).

При $K < 0,65$ диагностируют II стадию шейного остеохондроза. В случае, если $K \geq 0,65$, определяют значение K_1 :

$$K_1 = \frac{\exp(-13,9501 + 3,1233X_4 + 1,5407X_5 + 2,8103X_6 + 2,572X_7)}{1 + \exp(-13,9501 + 3,1233X_4 + 1,5407X_5 + 2,8103X_6 + 2,572X_7)},$$

где X_4 – степень снижения высоты межпозвонкового диска (0 – отсутствует, 1 – первая степень, 2 – вторая степень, 3 – третья степень), X_5 – наличие остеофитов (0 – отсутствуют, 1 – передние остеофиты, 2 – задние остеофиты, 3 – передние и задние остеофиты), X_6 – деформация тел позвонков (0 – отсутствует, 1 – определяется), X_7 – наличие сужения позвоночного канала (0 – отсутствует, 1 – определяется).

При $K_1 < 0,44$ диагностируют III стадию шейного остеохондроза, при $K_1 \geq 0,44$ – IV стадию.

Способ позволяет более точно диагностировать II, III, IV стадии шейного остеохондроза по результатам оценки рентгенологических симптомов, полученных на рентгенограммах, улучшить качество диагностики шейного остеохондроза, принимать квалифицированные решения о необходимости направления пациента для выполнения других высокоинформативных методов лучевой визуализации для более глубокого, детального и точного изучения структуральных и деформационных изменений элементов позвоночных сегментов с учетом биомеханических аспектов и специфики минерализации костной ткани при ОШОП уже на этапе рентгенологического исследования.

Микроструктурные изменения. Рентгеноденситометрические показатели позволяют объективно судить о состоянии костных структур ПДС при ОШОП, дают более четкое представление об микроархитектонике костных структур с учетом патологической биомеханики при ОШОП, биомеханические аспекты развития которого обусловлены изменением направления вектора воздействия нагрузки на элементы ПДС. Кроме того, они дают возможность определить роль микроструктурных изменений в ПДС в развитии рентгенологической стадийности процесса для более точного стадирования дегенеративно-дистрофического процесса и своевременного назначения соответствующего лечения.

При определении стадий ОШОП [28] нами установлены следующие рентгеноденситометрические показатели:

II стадия остеохондроза: в теле С3 позвонка в центральном отделе значение медианы составляет 387 единиц Хаунсфилда (НУ), интерквартильный диапазон – 368–431 НУ; в переднем отделе медиана составляет 327 НУ, интерквартильный диапазон – 307–369 НУ; в теле С7 позвонка в центральном отделе медиана составляет 314 НУ, интерквартильный диапазон – 264–348 НУ; в заднем отделе медиана составляет 309 НУ, интерквартильный диапазон – 269–341 НУ, значение Z-критерия – $4,13 \pm 1,39$;

III стадия остеохондроза: в теле С7 позвонка в центральном отделе медиана составляет 284 НУ, интерквартильный диапазон – 231–353 НУ; в заднем отделе медиана составляет 282 НУ, интерквартильный диапазон – 223–331 НУ;

IV стадия остеохондроза: в теле С3 позвонка в центральном отделе медиана составляет 360 НУ, интерквартильный диапазон – 313–434 НУ; в переднем отделе медиана составляет 287,5 НУ, интерквартильный диапазон – 239–345 НУ; в теле С7 позвонка в центральном отделе медиана составляет 265,5 НУ, интерквартильный диапазон – 218–308 НУ; в заднем отделе медиана составляет 256 НУ, интерквартильный диапазон – 222–305 НУ, значение Z-критерия – $5,11 \pm 1,82$.

Таким образом, статистически значимые различия рентгеноденситометрических показателей дают возможность более точно определить II, III и IV стадии ОШОП, что свидетельствует о важности микроструктурных изменений костных структур и специфике минеральной плотности костной ткани, биомеханических аспектах в развитии рентгенологической стадийности при дегенеративно-дистрофических изменениях шейного отдела позвоночника.

Выводы

1. Шейный отдел позвоночника имеет сложную геометрию, обеспечивает полиморфность движений, в результате чего многократные механические воздействия могут быть направлены как к каждому позвонку, так и на шейный отдел позвоночника в целом.

При шейном остеохондрозе включение защитных механизмов при многофакторном внешнем воздействии гравитационных и антигравитационных сил приводит к развитию патологической биомеханики в шейном отделе позвоночника, что ведет к микро- и макроструктурным изменениям, в результате чего тела позвонков деформируются, костные структуры изменяют свою внутреннюю архитектуру посредством ремоделирования костной ткани, что оказывает влияние на геометрию кости и деформационные изменения элементов позвоночных сегментов.

2. Рентгенологический метод позволяет диагностировать I функциональную стадию шейного остеохондроза при наличии такого отличительного признака, как выпрямление шейного лордоза. Деформация тел позвонков имеет место при II–IV стадиях ОШОП. Недостатком интерпретации рентгенограмм при диагностике этих стадий является то, что имеется определенная сложность оценки рентгенологических симптомов, которые характеризуют изменения элементов ПДС в рентгеновском изображении при шейном остеохондрозе. Это обусловлено тем, что используются преимущественно качественные показатели, оценка которых зависит от квалификации врача, опыта, его добросовестности, а также от качества выполненных рентгенограмм и наличия субъективности восприятия получаемых изображений.

3. Разработанный способ рентгенопланиметрии тел позвонков дает возможность определить макроструктурные изменения ПДС, где учитываются не только деформация тела позвонка и межпозвонкового диска, но и сужение позвоночного канала. Используя данные рентгенограмм и анамнеза, определяют значение K (первая прогнозная модель). При $K < 0,65$ диагностируют II стадию шейного остеохондроза. В случае, если $K \geq 0,65$, определяют значение K_1 (вторая прогнозная модель). При $K_1 < 0,44$ диагностируют III стадию шейного остеохондроза, при $K_1 \geq 0,44$ – IV стадию.

4. В установлении минерализации костных элементов ПДС и трансформации микро- и макроархитектоники кости ведущая роль отводится методам РКТ и РККТ. В комплексной лучевой диагностике ОШОП по рентгеноденситометрическим показателям устанавливают стадию остеохондроза.

Так, II стадию остеохондроза определяют, если в теле С3 позвонка в центральном отделе значение медианы составляет 387 единиц Хаунсфилда (НУ), интерквартильный диапазон – 368–431 НУ;

в переднем отделе медиана составляет 327 НУ, интерквартильный диапазон – 307–369 НУ, в теле С7 позвонка в центральном отделе медиана составляет 314 НУ, интерквартильный диапазон – 264–348 НУ; в заднем отделе медиана составляет 309 НУ, интерквартильный диапазон – 269–341 НУ и значение Z-критерия составляет $4,13 \pm 1,39$.

III стадию остеохондроза определяют в случае, если в теле С7 позвонка в центральном отделе медиана составляет 284 НУ, интерквартильный диапазон – 231–353 НУ; в заднем отделе медиана составляет 282 НУ, интерквартильный диапазон – 223–331 НУ.

IV стадию остеохондроза определяют в случае, если в теле С3 позвонка в центральном отделе медиана составляет 360 НУ, интерквартильный диапазон – 313–434 НУ; в переднем отделе медиана составляет 287,5 НУ, интерквартильный диапазон – 239–345 НУ; в теле С7 позвонка в центральном отделе медиана составляет 265,5 НУ, интерквартильный диапазон – 218–308 НУ; в заднем отделе медиана составляет 256 НУ, интерквартильный диапазон – 222–305 НУ, значение Z-критерия составляет $5,11 \pm 1,82$.

5. Разработанные модели и качественные критерии прогнозирования и установления стадий ОШОП повышают эффективность его лучевой визуализации и дают возможность более точно диагностировать стадийность дегенеративно-дистрофического процесса, применить алгоритм направления на более высокоинформативные методы лучевой диагностики шейного остеохондроза еще на этапе рентгенологического исследования, которое можно выполнить в рентгеновских кабинетах учреждений здравоохранения Республики Беларусь на первом уровне оказания медицинской помощи. Для первой прогнозной модели обеспечена специфичность (Sp) 97,4 %, а чувствительность (Se) 92,9 %. При оценке ROC-кривой показатель AUC составляет 0,979, что соответствует отличному качеству по специализированной экспертной шкале. Для второй прогнозной модели обеспечена Sp = 93,0 %, а Se = 87,1 %. При оценке ROC-кривой показатель AUC составляет 0,952, что также соответствует отличному качеству по специализированной экспертной шкале.

6. Способы определения, диагностики и прогнозирования стадий ОШОП, разработанные нами, дают возможность осуществлять алгоритм направления пациентов с шейным остеохондрозом для проведения рентгеновской компьютерной томографии и рентгеновской количественной компьютерной томографии, где определены их роль и место в комплексной лучевой диагностике ОШОП при верификации макро- и микроструктурных изменений с учетом объективных критериев оценки, что улучшает качество и повышает точность диагностики стадий шейного остеохондроза и позволяет своевременно назначить соответствующее лечение и комплекс медицинских реабилитационных мероприятий при данной патологии. Эти рекомендации будут полезны врачам лучевой диагностики, неврологам, травматологам-ортопедам, нейрохирургам. Внедрение современных методов лучевой визуализации дает возможность повысить эффективность лучевой диагностики шейного остеохондроза, уменьшить потери от временной и стойкой нетрудоспособности и экономические затраты на проведение лечебных и медицинских реабилитационных мероприятий.

Список использованной литературы

1. *Абельская, И. С.* Актуальные аспекты рентгенологической диагностики остеохондроза шейного отдела позвоночника на этапах медицинской реабилитации / И. С. Абельская, А. Н. Михайлов // Вестн. рентгенологии и радиологии. – 2006. – № 6. – С. 22–28.
2. *Абельская, И. С.* Шейный остеохондроз: диагностика и медицинская реабилитация / И. С. Абельская, О. А. Михайлов, В. Б. Смычек; науч. ред. А. Н. Михайлов. – Минск: БелМАПО, 2007. – 347 с.
3. *Абельская, И. С.* Комплексная лучевая диагностика шейного остеохондроза // И. С. Абельская, А. Н. Михайлов // Новые горизонты: Невск. радиол. форум, 7–10 апр. 2007 г. – СПб., 2007. – С. 67–78.
4. *Антонов, И. П.* Основные итоги 20-летнего изучения проблемы «Заболевания периферической нервной системы» коллективом НИИ неврологии, нейрохирургии и физиотерапии Минздрава Беларуси» / И. П. Антонов // Актуальные проблемы неврологии и нейрохирургии: сб. науч. тр. / Науч.-исслед. ин-т неврологии, нейрохирургии и физиотерапии; ред. А. Ф. Смянович, И. П. Антонов. – Минск, 1999. – Вып. 1. – С. 6–17.
5. *Белосельский, Н. Н.* Рентгенологическая диагностика остеопенического синдрома / Н. Н. Белосельский, А. В. Смирнов. – М.: ИМА-пресс, 2010. – 120 с.

6. Беневоленская, Л. И. Патогенез остеопороза: руководство по остеопорозу / Л. И. Беневоленская, Е. Л. Носонов; под ред. Л. И. Беневоленской. – М.: БИНОМ, 2003. – 524 с.
7. Бриггс, Т. Оперативная ортопедия. Стенморское руководство / Т. Бриггс, Д. Майлз, У. Астон; пер. с англ. – М.: Изд-во Панфилова; Изд-во БИНОМ, 2014. – 307 с.
8. Бургенер, Ф. А. Лучевая диагностика заболеваний костей и суставов: руководство: атлас / Ф. А. Бургенер, М. Кормано, Т. Пудас; пер. с англ. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 552 с.
9. Дегенеративно-дистрофические поражения позвоночника (лучевая диагностика, осложнения после дисэктомии): руководство для врачей / Т. Е. Рамешвили [и др.]; Воен.-мед. акад. – СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2011. – 218 с.
10. Жарков, П. Л. Остеохондроз и другие дистрофические изменения опорно-двигательной системы у взрослых и детей / П. А. Жарков. – М.: Видар-М, 2009. – 374 с.
11. Кузнецов, В. Ф. Вертеброневрология: клиника, диагностика, лечение заболеваний позвоночника: справ. изд-е / В. Ф. Кузнецов. – Минск: Книж. Дом, 2004. – 640 с.
12. Лучевая диагностика дегенеративных заболеваний позвоночника: руководство / Г. Е. Труфанов [и др.]. – СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2010. – 288 с.
13. Метод количественного определения плотности костных структур шейного отдела позвоночника: инструкция по применению: № 078-0915; утв. М-вом здравоохран. Респ. Беларусь 27.11.2015 / А. Н. Михайлов, Т. Н. Лукьяненко; Беларус. гос. мед. акад. последиплом. образования, Гомел. обл. клин. больница. – Минск, 2015. – 8 с.
14. Михайлов, А. Н. Корреляционная связь между рентгеноденситометрическими характеристиками костных структур позвоночных сегментов и биомеханикой при шейном остеохондрозе / А. Н. Михайлов, Т. Н. Лукьяненко // Современные диагностические технологии нейровизуализации: материалы респ. науч.-практ. конф., Минск, 14 нояб. 2014 г. / Беларус. мед. акад. последиплом. образования; под ред. Е. А. Ручкой. – Минск, 2014. – С. 55–58.
15. Михайлов, А. Н. КТ-визуализация костных структур позвоночных сегментов при шейном остеохондрозе / А. Н. Михайлов, Т. Н. Лукьяненко // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. и 23-й итог. науч. сессии Гомел. гос. мед. ун-та: в 4 т., Гомель, 13–14 нояб. 2014 г. / Гомел. гос. мед. ун-т; ред.: А. Н. Лызинов [и др.]. – Гомель, 2014. – Т. 3. – С. 78–79.
16. Михайлов, А. Н. Лучевая визуализация дегенеративно-дистрофических заболеваний позвоночника и суставов: мультимед. руководство для врачей / А. Н. Михайлов; Беларус. гос. акад. последиплом. образования. – Минск: БелМАПО, 2015. – 177 с.
17. Михайлов, А. Н. Минеральная плотность позвоночника при его остеохондрозе / А. Н. Михайлов, Э. Е. Малевич, Т. Н. Лукьяненко // Радиология–2014: материалы VIII Всерос. Нац. конгр. лучевых диагностов и терапевтов, Москва, 28–30 мая 2014 г. / под ред. Н. С. Серовой. – М., 2014. – [Опубл. в журн.] REJR. Рос. электрон. журн. лучевой диагностики. – 2014. – Т. 3, № 2. – С. 20–21.
18. Михайлов, А. Н. Рентгеноденситометрическая характеристика костных структур позвоночных сегментов при шейном остеохондрозе / А. Н. Михайлов, Т. Н. Лукьяненко // Мед. новости. – 2014. – № 10. – С. 47–50.
19. Михайлов, А. Н. Рентгенодиагностика заболеваний костно-суставной системы / А. Н. Михайлов. – Минск: БелМАПО, 2011. – 299 с.
20. Михайлов, А. Н. Роль количественной компьютерной томографии в оценке архитектоники костных структур у пациентов с остеохондрозом шейного отдела позвоночника / А. Н. Михайлов, И. С. Абельская, Т. Н. Лукьяненко // Мед.-биол. пробл. жизнедеятельности. – 2015. – № 1. – С. 104–111.
21. Михайлов, А. Н. Современные проблемы лучевой диагностики шейного остеохондроза / А. Н. Михайлов, И. С. Абельская, Т. Н. Лукьяненко // Мед. новости. – 2015. – № 7. – С. 4–11.
22. Михайлов, А. Н. Способ установки корреляционных связей между плотностью костных структур и стадиями остеохондроза / А. Н. Михайлов, Т. Н. Лукьяненко // Невский радиол. форум 2013: сб. науч. работ 4-го междунар. форума, Санкт-Петербург, 5–7 апр. 2013 г. / под ред. Н. А. Карловой. – СПб., 2013. – С. 141.
23. Михайлов, А. Н. Сравнительный анализ значимости методов лучевой диагностики при характеристике костных структур позвоночных сегментов при шейном остеохондрозе [Электронный ресурс] / А. Н. Михайлов, И. С. Абельская, Т. Н. Лукьяненко // Междунар. обзоры: клин. практика и здоровье. – 2015. – № 4. – С. 5–24. – Режим доступа: superleninka.ru. – Дата доступа: 19.08.2015.
24. Нечаев, В. И. Основы теории локомоторной морфологии позвоночного столба человека / В. И. Нечаев, Е. В. Малащенко // Математ. морфология. – 2007. – Т. 6, № 3. – С. 23.
25. Риггз, Б. Л. Остеопороз: этиология, диагностика, лечение / Б. Л. Риггз, Л. Д. Мелтон; пер. с англ. – М.: БИНОМ; СПб.: Невский диалект, 2000. – 560 с.
26. Спиральная компьютерная томография в оценке костных структур при дегенеративно-дистрофических изменениях позвоночника / Н. А. Аносов [и др.] // Современные возможности лучевой диагностики заболеваний и повреждений у военнослужащих: материалы конф. – СПб., 1999. – С. 186–189.
27. Способ диагностики II–IV стадий шейного остеохондроза: заявка 20150573 Респ. Беларусь: МПК А61В5/00 (2006.01), G01N23/00 / А. Н. Михайлов, Т. Н. Лукьяненко; дата: 19.11.2015.
28. Способ определения II–IV стадий остеохондроза шейного отдела позвоночника: заявка 20150572 Респ. Беларусь: МПК А61В5/00 (2006.01), G01N23/00 / А. Н. Михайлов, Т. Н. Лукьяненко; дата заявки: 19.11.2015.
29. Хостен, Н. Компьютерная томография головы и позвоночника / Н. Хостен, Т. Либиг; пер. с нем.; под общ. ред. Ш. Ш. Шотемора. – М.: МЕДпресс-информ, 2011. – 576 с.

30. *Шевелев, И. Н.* Дегенеративно-дистрофические заболевания шейного отдела позвоночника / И. Н. Шевелев, А. О. Гуца. – М.: АБВ-пресс, 2008. – 176 с.
31. *Adams, J. E.* Quantitative computed tomography / J. E. Adams // *Eur. J. of Radiol.* – 2009. – Vol. 71, N 3. – P. 415–424.
32. *Bartl, R.* Osteoporose: prevention, diagnostic, therapie / R. Bartl, C. Bartl. – 4 auflage. – Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG, 2011. – 385 p.
33. Helical multidetector row quantitative computed tomography (QCT) precision / M. Bligh [et al.] // *Acad. Radiol.* – 2009. – Vol. 16, N 2. – P. 150–159.
34. *Kohlmann, T.* Ruckenschmerzen in Deutschland-eine epidemiologische Bestandsaufnahme / T. Kohlmann, C. Schmidt // *Orthop. & Rheuma.* – 2005. – N 1. – P. 38–41.
35. *Kraemer, J.* Intervertebral disk diseases: causes, diagnosis, theatment and prophylaxis / J. Kraemer. – N. Y.: Thieme Publishing Group, 2008. – 375 p.
36. *Nachemson, A.* Epidemiology and the economics of low back pain / A. Nachemson // *The lumbar spine* / eds.: H. Herkowitz [et al.]. – 3rd ed. – Philadelphia, 2004. – P. 3–10.
37. Quantitative Computed Tomography (QCT): The Forgotten Gold Standard? / J. E. Adams [et al.] // *J. of Bone Mineral Res.* – 2000. – Vol. 15. – P. 169.
38. Regional trabecular morphology assessed by micro-CT is correlated with failure of aged thoracic vertebrae under a posteroanterior load and may determine the site of fracture / M. M. Sran [et al.] // *Bone.* – 2007. – Vol. 40, N 3. – P. 751–757.
39. Relationships of cervical, thoracic, and lumbar bone mineral density by quantitative CT / D. Weishaupt [et al.] // *J. of Comput. Assist. Tomogr.* – 2001. – Vol. 25, N 1. – P. 146–150.

Поступила в редакцию 03.02.2016

УДК 616.329-006.6:616-089.344(476)

И. А. ИЛЬИН, В. Т. МАЛЬКЕВИЧ

ПОВТОРНАЯ И ОТСРОЧЕННАЯ ЭЗОФАГОПЛАСТИКА В ЛЕЧЕНИИ КАРЦИНОМ ПИЩЕВОДА И ПИЩЕВОДНО-ЖЕЛУДОЧНОГО ПЕРЕХОДА

*Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии
им. Н. Н. Александрова, Минск, Беларусь, e-mail: ileus@tut.by*

Целью исследования было разработать метод повторной и отсроченной реконструкции пищевода после незавершенной эзофагопластики для пациентов, страдающих раком пищевода и гастроэзофагеальным раком. С 2010 по 2015 г. в РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова 41 пациенту выполнены повторные ($n = 29$) и отсроченные ($n = 12$) реконструкции пищевода толстой кишкой после радикальных операций по поводу рака пищевода и гастроэзофагеального рака с незавершенной эзофагопластикой. Для оценки эффективности разработанной технологии сформированы две группы пациентов – контрольная ($n = 21$) и основная ($n = 20$). В контрольной группе пациентов пластику выполняли по ранее применявшейся методике, в основной – по разработанному методу с васкуляризацией за счет анастомозирования ободочно-кишечных сосудов трансплантата и внутренних грудных сосудов. Применение нового метода реконструкции пищевода позволило снизить общую частоту развития послеоперационных осложнений (с 57,1 до 15,0 %, $p = 0,006$) преимущественно за счет снижения частоты развития ишемических осложнений (с 33,3 до 5,0 %, $p = 0,024$). Метод реконструкции повышает показатели общей выживаемости: 1-летней – от $43,2 \pm 11,4$ до $66,7 \pm 11,4$ %, 3-летней – от $21,6 \pm 10,5$ до $34,3 \pm 13,2$ % ($p_{\log\text{-rank}} = 0,350$). При этом медиана выживаемости увеличилась от $6,0 \pm 1,0$ до $16,0 \pm 1,5$ мес. Дополнительное кровоснабжение трансплантата снижает частоту развития рубцовой стриктуры пищевода анастомоза с 28,6 до 5,0 % ($p = 0,048$). Применение разработанного метода реконструкции пищевода у пациентов после незавершенной эзофагопластики улучшает непосредственные и отдаленные результаты пластики у пациентов, страдающих раком пищевода и гастроэзофагеальным раком, после оперативных вмешательств с незавершенной эзофагопластикой, не оказывая влияния на частоту и структуру послеоперационных осложнений, госпитальную и 30-дневную летальность.

Ключевые слова: повторная и отсроченная эзофагопластика, толстокишечная пластика с васкуляризацией.

I. A. ILYIN, V. T. MALKEVICH

REPEATED AND DELAYED ESOPHAGOPLASTY IN ESOPHAGEAL AND GASTROESOPHAGEAL CANCER TREATMENT

N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Minsk, Belarus, e-mail: ileus@tut.by

The aim of the study was to develop a method of repeated and delayed esophageal reconstruction after incomplete esophageal replacement for patients with esophageal and gastroesophageal carcinomas. From 2010 to 2015 at the N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus 41 patients underwent repeated ($n = 29$) and delayed ($n = 12$) esophageal replacement by colon interposition after radical surgery for esophageal and gastroesophageal carcinomas after incomplete esophagoplasty. To evaluate the technology effectiveness, all patients were divided into two groups – control ($n = 21$) and main ($n = 20$) ones. In the control group esophageal reconstruction was performed by the previously used procedure, in the main group – by the developed method with vascular augmentation of the graft by the vascular anastomosis formation between colonic and internal thoracic vessels. The use of a new method of esophageal reconstruction has reduced the overall incidence of postoperative complications (from 57.1 to 15.0 %, $p = 0.006$) mainly due to decreasing the incidence of ischemic complications (from 33.3 to 5.0 %, $p = 0.024$). The method of reconstruction has allowed one to increase the overall survival: 1-year – with 43.2 ± 11.4 to 66.7 ± 11.4 %, and 3-year – with 21.6 ± 10.5 to 34.3 ± 13.2 % ($p_{\log\text{-rank}} = 0.350$). At the same time, the median survival increased from 6.0 ± 1.0 months to 16.0 ± 1.5 months. Additional blood supply to the graft has reduced the incidence of esophageal anastomotic scar stricture from 28.6 to 5.0 % ($p = 0.048$). The new method of esophageal reconstruction can improve the immediate and long-term results of plastic in patients suffering from esophageal and gastroesophageal carcinomas after surgery with incomplete esophagoplasty without affecting the frequency and structure of postoperative complications, in-hospital and 30-day mortality.

Keywords: repeated and delayed esophagoplasty, colon interposition with vascular augmentation.

Введение. Хирургический метод является ведущим в лечении пациентов, страдающих раком пищевода и гастроэзофагеальным раком [1–3]. Общеизвестным стандартом хирургии данных локализаций является выполнение одноэтапных операций, где резекционный и реконструктивный этапы совмещены по времени. Проблема реконструкции пищевода сложна и в настоящее время до конца не решена [4, 5]. При этом актуален вопрос о выборе пластического материала для создания искусственного пищевода. Особую категорию представляют пациенты, нуждающиеся в отсроченной или повторной реконструкции пищевода после незавершенной эзофагопластики – плановых разобщающих операций (эзофагэктомия без пластики) или экстренных разобщающих операций, выполненных по поводу осложнений первичной гастро- или еюнопластики. Основными причинами послеоперационных осложнений и летальности после одноэтапных операций на пищеводе или пищеводно-желудочном переходе являются ишемические осложнения – некроз трансплантата и/или несостоятельность пищеводного анастомоза [6–8], что зачастую требует выполнения экстренных разобщающих операций. Другую категорию представляют пациенты, которым одноэтапная операция невыполнима в связи с декомпенсацией сопутствующей патологии, обширностью опухолевого поражения, дефицитом массы тела. При этом на первом этапе выполняется эзофагэктомия без пластики.

И экстренные, и плановые разобщающие операции завершаются стомированием – формированием эзофаго- и гастро- или еюностомы, т. е. стойкой инвалидизацией пациента. В связи с этим данной категории пациентов необходима отсроченная или повторная эзофагопластика, которую выполняют отдельным хирургическим этапом [9, 10]. Проблема реконструкции пищевода у данной категории пациентов носит медико-социальный характер и требует совершенствования подходов к лечебному (хирургическому) этапу медицинской реабилитации при дефиците пластического материала.

Современным направлением при профилактике ишемических осложнений является изучение возможности повышения жизнеспособности искусственного пищевода за счет создания источника дополнительного кровоснабжения для различных висцеральных трансплантатов, используемых для эзофагопластики [11–15]. Разработка новых методов эзофагопластики потенциально способна улучшить непосредственные и отдаленные результаты лечения у данной категории пациентов. Необходимость изучения указанной проблемы и определяет актуальность исследования в данном направлении.

Цель исследования – разработать метод повторной и отсроченной реконструкции пищевода после незавершенной эзофагопластики для пациентов, страдающих раком пищевода и гастроэзофагеальным раком.

Материалы и методы исследования. Для обработки результатов методами описательной статистики рассчитывали параметры, которые представляли в виде медианы (Me) и квартилей (Q) – Me ($Q1$; $Q2$). Сравнение двух независимых групп с ненормальным распределением значений количественных признаков осуществляли методом межгруппового сравнения непараметрических признаков с помощью U -критерия Манна–Уитни, сравнение внутригрупповых зависимых переменных – с помощью критерия Вилкоксона (p_2). Интенсивность корреляционной связи между признаками определяли, используя коэффициент ранговой корреляции Спирмена (ρ). Выживаемость рассчитывали методом Каплана–Мейера с визуализацией функции выживаемости в виде ступенчатого графика и указанием на кривой цензурированных наблюдений. Показатели средней продолжительности жизни и медианы выживаемости рассчитывали с указанием стандартной ошибки. Сравнительный анализ выживаемости осуществляли по \log -rank тесту.

С 2010 по 2015 г. в РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова реконструкция пищевода толстокишечным трансплантатом после незавершенной эзофагопластики была выполнена 41 пациенту (12 (29,3 %) – отсроченная эзофагопластика после плановых разобщающих операций, 29 (70,7 %) – повторная эзофагопластика после разобщающих операций вследствие ишемических осложнений, развившихся после первичной реконструкции). Из этой когорты сформированы две группы пациентов – контрольная ($n = 21$) и основная ($n = 20$). В контрольной группе реконструктивную эзофагоколопластику выполняли по стандартной методике (без васкуляризации), в основной группе – по разработанному методу, включающему различные варианты васкуляризации транс-

плантата, формирование пищеводно-толстокишечного анастомоза конец в конец, ликвидацию костного (резекция мечевидного отростка грудины) и мышечного (широкое рассечение группы передних прямых мышц шеи слева) факторов компрессии на трансплантат при проведении на шею в загрудинном канале.

Васкуляризацию толстокишечного трансплантата у всех пациентов основной группы ($n = 20$, $p < 0,001$) осуществляли путем анастомозирования ободочно-кишечных артерий трансплантата (рис. 1).

Основным типом применяемого пищеводно-толстокишечного анастомоза в основной группе был анастомоз конец в конец, который применялся у всех 20 (100 %) пациентов (в контрольной группе он не использовался) ($p < 0,001$).

У пациентов основной группы ($n = 20$) при формировании ретростернального тоннеля осуществляли ликвидацию факторов компрессии на трансплантат в наиболее узких его местах ($p < 0,001$). Для этого в канале верхней апертуры грудной клетки выполняли широкое рассечение группы передних прямых мышц шеи слева (мышечный фактор), а в канале нижней апертуры грудной клетки – удаление мечевидного отростка грудины (костный фактор).

В объединенной выборке ($n = 41$) возраст пациентов составил 56,0 (52,0; 62,0), в контрольной и основной группах – 56,0 (52,0; 63,0) и 56,5 (51,5; 61,0) года соответственно ($p = 0,855$). Индекс массы тела в общей когорте составил 21,0 (19,0; 24,1) Ед. В контрольной и основной группах данный показатель составил 21,8 (19,0; 25,6) и 21,0 (19,1; 23,7) Ед соответственно ($p = 0,475$). При этом в группах в равной мере преобладали пациенты (57,1 и 70,0 %) с нормальными показателями индекса массы тела (от 18 до 25 Ед, $p = 0,835$).

Сравнение показателей пациентов исследуемых групп с помощью методов непараметрической статистики выявило их сопоставимость по основным прогностическим критериям ($p > 0,05$): частоте встречаемости рака пищевода (плоскоклеточного рака) и гастроэзофагеального рака (аденокарциномы) ($p = 0,891$). По степени инвазии опухоли стенки пищевода (pT) как в контроле, так и в основной группе преобладали опухоли с инвазией мышечного слоя и адвентиции пищевода (pT3) – 42,9 и 50 % соответственно ($p = 0,978$), а также метастатические поражения регионарных лимфоузлов (pN1-3) – 57,1 и 35,0 % ($p = 0,160$). В обеих группах была высока доля опухолей с III стадией опухолевого процесса (57,1 и 40,0 % соответственно, $p = 0,635$).

Результаты и их обсуждение. Продолжительность оперативного вмешательства в основной группе пациентов в среднем на 47,5 мин превышала таковую в группе контроля: 367,5 (322,5; 410,0) мин против 320,0 (262,5; 355,0) мин ($p = 0,029$). Увеличение продолжительности вмешательства не сопровождалось увеличением частоты послеоперационных осложнений и летальности.

В основной группе пациентов правый фланг толстой кишки в изоперистальтической позиции для пластики использовали чаще, чем в группе контроля, – 90 % против 47,6 % соответственно ($p = 0,004$). Это было обусловлено стремлением создать функциональный трансплантат и расположить его по физиологическому направлению перистальтики в изоперистальтической позиции.

В группе контроля для реконструкции чаще применялся левый фланг толстой кишки в антиперистальтической позиции — 52,4 % против 10 % ($p = 0,004$).

В контрольной и основной группах в равной мере были выполнены следующие типы дистальных коловисцеральных анастомозов ($p = 0,188$): конец в бок тонкой кишки на петле по Ру – 23,8 и 20 %, конец в бок тонкой кишки на петле с межкишечным соустьем — 19 и 60 %, конец в бок передней стенки двенадцатиперстной кишки – 19 и 0 %, конец в бок передней стенки желудка – 38,1 и 20 %.

Индивидуальные особенности ангиоархитектоники определяли варианты формирования трансплантата на основной (питающей) сосудистой ножке из левых или средних ободочных сосудов.

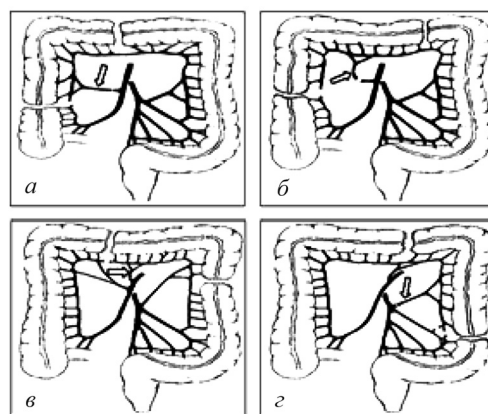


Рис. 1. Варианты формирования трансплантатов, отличающиеся сегментом кишки и ободочной артерией (а – правая, б – средняя, в – добавочная средняя, г – левая), используемой для анастомозирования с внутренними грудными артериями

Пересечение правых ободочных сосудов чаще выполнялось пациентам основной группы (75 % против 42,9 %, $p = 0,039$). Это определялось необходимостью включения их в изоперистальтический трансплантат для васкуляризации (рис. 1, а).

По этой же причине пересечение средних ободочных сосудов также чаще выполняли пациентам основной группы – 80 % против 42,9 % ($p = 0,016$). При этом полная перевязка средних ободочных сосудов потребовалась в основной группе в 60 % случаев против 28,6 % случаев в группе контроля ($p = 0,021$), что было обусловлено технологией вмешательства и особенностями формирования трансплантата (рис. 1, б).

В свою очередь пересечение левых ободочных сосудов чаще выполняли пациентам контрольной группы — 47,6 % против 10 % ($p = 0,009$). Этот факт объясняется более частым формированием толстокишечного трансплантата в антиперистальтической позиции из левого фланга на основной питающей ножке из средних ободочных сосудов.

Все межартериальные анастомозы ($n = 20$) были сформированы в левом предфасциальном пространстве в проекции соответствующего межреберья (от нижнего края II ребра до верхнего края VI ребра). Диаметр левой внутренней грудной артерии на указанном выше протяжении составил 2,6 (2,5; 2,7) мм. На указанном участке в 50 % наблюдений венозная система была представлена двумя венозными стволами малого калибра – по 1,5 (1,4; 1,5) мм. Общая схема реконструкции представлена на рис. 2.

Формирование зоны доступа к внутренним грудным сосудам для васкуляризации трансплантата осуществляли путем резекции хрящевой части: II ребра – в 6 (30 %) случаях, III ребра – в 9 (45 %), IV ребра – в 3 (15 %), V ребра – в 2 (10 %). На указанных уровнях не возникало проблем с формированием артериальных анастомозов конец в конец, так как диаметры анастомозируемых сосудов были сопоставимы ($p_z > 0,05$). Анастомозирование средней ободочной артерии 2,5 (2,5; 2,8) мм с внутренней грудной артерией 2,6 (2,5; 2,7) мм было осуществлено в 6 (30 %) случаях ($p_z = 0,418$); добавочной средней ободочной артерии 2,4 (2,3; 2,4) мм с внутренней грудной артерией 2,6 (2,5; 2,7) мм – в 3 (15 %) случаях ($p_z = 0,102$); левой ободочной артерии 2,6 (2,5; 2,7) мм с внутренней грудной артерией 2,6 (2,5; 2,7) мм – в 2 (10 %) случаях ($p_z = 0,173$).

Анастомозирование правой ободочной артерии с внутренней грудной артерией, несмотря на различия в их диаметре – 2,0 (1,9; 2,1) мм и 2,6 (2,5; 2,7) мм соответственно ($p_z < 0,001$), было выполнено у 9 (45 %) пациентов. Сопоставимость сосудов для анастомозирования конец в конец было достигнуто путем пересечения ободочно-кишечной артерии в косом направлении.

Межвенозные анастомозы выполнены по показаниям (венозная гипертензия с непреодолимым венозостазом в трансплантате) в 3 (15 %) случаях. При этом анастомозировали среднюю ($n = 1$) и левые ($n = 2$) ободочные вены с внутренними грудными венами (рис. 3). Анастомозируемые

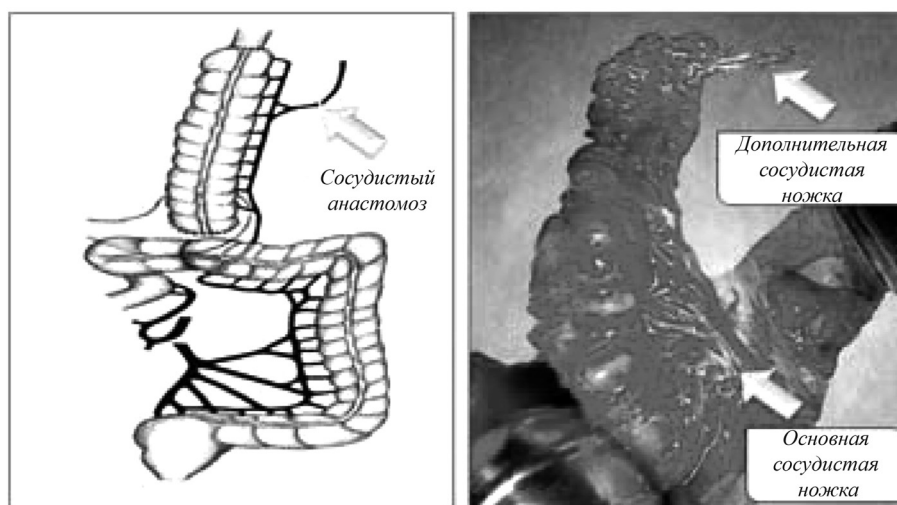


Рис. 2. Общая схема реконструкции пищевода толстой кишкой с васкуляризацией

вены оказались сопоставимы по диаметру для формирования анастомоза конец в конец ($p_z = 0,109$).

Анализ структуры послеоперационных хирургических осложнений показал, что применение разработанного метода повторной и отсроченной реконструкции пищевода позволяет снизить общую частоту развития послеоперационных осложнений с 57,1 до 15 % ($p = 0,006$). Ишемические осложнения (некроз и/или несостоятельность анастомоза) в контрольной группе пациентов развивались значительно чаще, чем в основной, составив 33,3 и 5 % соответственно ($p = 0,024$). По структуре терапевтических послеоперационных осложнений (пневмония, легочно-сердечная недостаточность) существенных отличий между сравниваемыми группами не было ($p = 0,083$ и $p = 0,329$ соответственно). Показатели послеоперационной летальности (госпитальной и 60-дневной) также не различались в группах сравнения ($p = 0,329$).

Реконструкция пищевода после незавершенной эзофагопластики представляет собой лечебный (хирургический) этап медицинской реабилитации стомированных пациентов, оперированных по поводу рака пищевода или гастроэзофагеального рака с незавершенной эзофагопластикой.

В основной группе пациентов, которым применен разработанный метод реконструкции, частота развития послеоперационных ишемических (некроз и/или несостоятельность) осложнений снизилась с 33,3 до 5 % ($p = 0,024$). Наличие инфекции в области шейной раны у пациентов обеих групп в равной мере свидетельствовало о развитии ишемических осложнений. Выявлена корреляционная связь между наличием инфекции в шейной ране и наличием ишемических осложнений ($p = 0,321$, $p = 0,041$), в частности некроза колотрансплантата ($p = 0,563$, $p = 0,0001$).

Реконструкция пищевода с использованием разработанного метода позволила снизить травматичность вмешательства за счет уменьшения объема мобилизации толстой кишки с тотального в контрольной группе (85,7 %) до субтотального (60 %) в основной группе ($p = 0,003$). В результате объем интраоперационной кровопотери уменьшился с 400 (300; 600) мл до 300 (262,5; 400,0) мл ($p = 0,007$).

Сужение дуги Риолана в группе контроля и в исследуемой группе выявлено у 8 (38,1 %) и 12 (60 %) пациентов соответственно ($p = 0,212$), перерыв дуги Риолана – у 2 (9,5 %) и 1 (5 %) ($p = 0,583$). Корреляционный анализ по Спирмену позволил установить корреляционную связь между васкуляризацией изоперистальтического колотрансплантата и сужением дуги Риолана ($p = 0,419$, $p = 0,007$). Такая закономерность обусловлена тем, что для формирования трансплантата в изопозиции из правого фланга толстой кишки достаточной длины требуется пересечение правых и средних ободочных сосудов, а в условиях сужения дуги Риолана для формирования жизнеспособного трансплантата с достаточным кровоснабжением необходимо создать источник дополнительного кровоснабжения путем ангиотранспозиции.

При определении показаний к васкуляризации трансплантата ангиографически изучали также состояние (сужение или перерыв) краевого сосуда по правому и левому флангам толстой кишки (рис. 4).

По данным ультразвуковой доплерографии (рис. 5), диаметр межартериального анастомоза (3,0 (2,9; 3,1) мм) увеличен по сравнению с диаметром преанастомотического сегмента внутренней грудной артерии в III межреберье (2,6 (2,5; 2,7) мм) ($p_z < 0,001$). Кроме того, на изучаемом участке отмечено снижение объемного кровотока с 97,50 (94,00; 104,75) мл до 67,50 (64,00; 75,75) мл ($p_z < 0,001$) и компенсаторное повышение индекса пульсативности (PI) с 1,46 (1,40; 1,54) до 1,73 (1,70; 1,80) ($p_z < 0,001$). При этом индексы резистивности (RI) на этих участках сосудистого русла не различались (0,82 (0,75; 0,85) и 0,84 (0,80; 0,88) соответственно) ($p_z = 0,058$).

Данный факт свидетельствует об эффективном кровотоке по сосудистому анастомозу, что подтверждается также результатами маммографии слева в отдаленные сроки (6 мес. после операции), где отчетливо визуализировалась внутренняя грудная артерия, сосудистый анастомоз, транспозиционированная ободочно-кишечная артерия и краевой сосуд толстокишечного трансплантата (рис. 6).

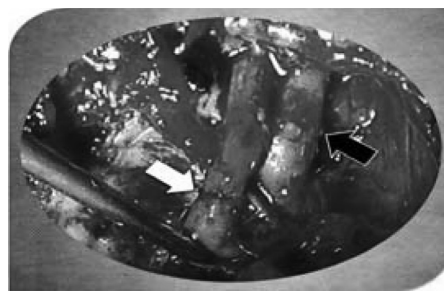


Рис. 3. Сосудистые анастомозы: межартериальный (черная стрелка), межвенозный (белая стрелка)

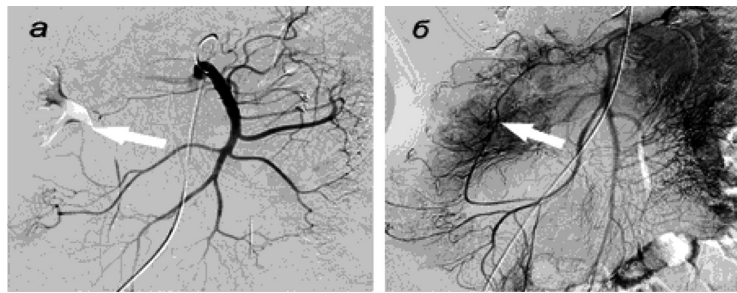


Рис. 4. Оценка состояния краевого сосуда (а – перерыв краевого сосуда, б – непрерывный краевой сосуд) по правому флангу толстой кишки на основании данных верхней мезентериографии

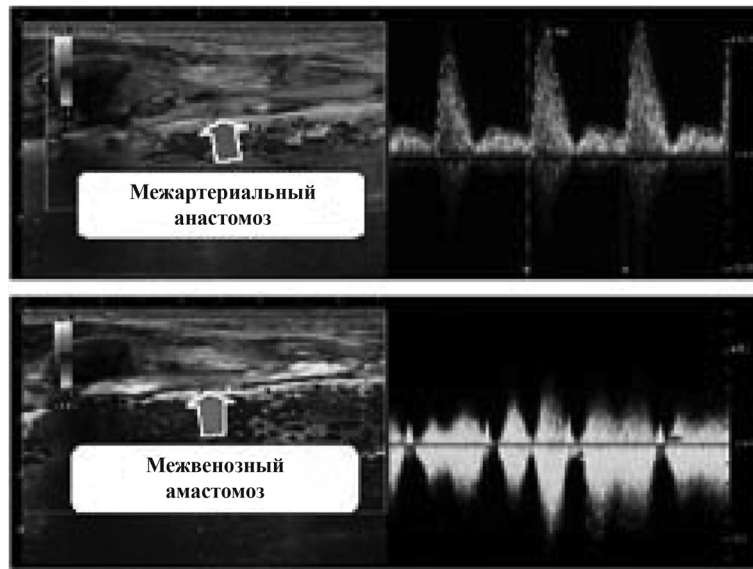


Рис. 5. Допплерография сосудистых анастомозов

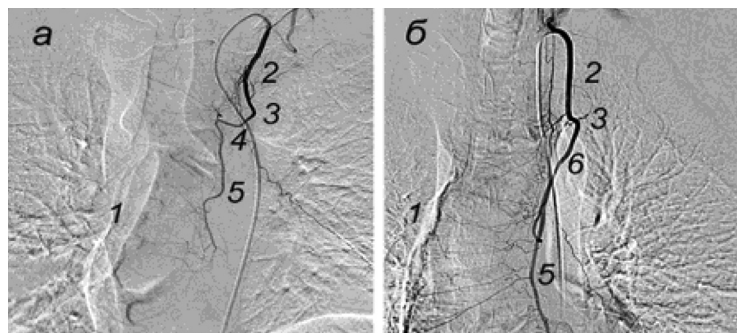


Рис. 6. Селективная ангиография сосудистых анастомозов (а – с правой ободочной артерией, б – со средней ободочной артерией): 1 – загрудинно расположенный толстокишечный трансплантат, 2 – внутренняя грудная артерия, 3 – сосудистый анастомоз, 4 и б – транспозиционированная ободочно-кишечная артерия (правая и средняя соответственно), 5 – краевой сосуд трансплантата

Таким образом, несмотря на усложнение оперативного вмешательства, обусловленное васкуляризацией, средняя продолжительность стационарного пребывания пациентов контрольной и основной групп составила 29,0 (18,0; 39,0) и 23,0 (21,0; 31,5) дней соответственно ($p = 0,628$).

Использование разработанного метода реконструкции пищевода позволило повысить показатели выживаемости (рис. 7) по сравнению с лицами контрольной группы: 1-летней – от $43,2 \pm 11,4$ до $66,7 \pm 11,4$ %, 3-летней – от $21,6 \pm 10,5$ до $34,3 \pm 13,2$ % ($p_{\log\text{-rank}} = 0,350$). При этом медиана выживаемости увеличилась от $6,0 \pm 1,0$ до $16,0 \pm 1,5$ мес. В настоящее время продолжает наблюдаться 15 (36,5 %) пациентов.

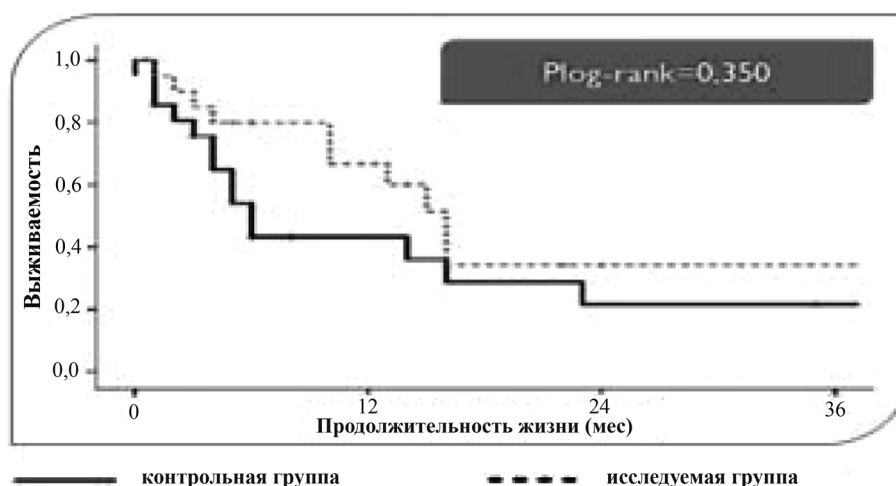


Рис. 7. Общая выживаемость пациентов в группах сравнения

Кроме того, по клинико-рентгенологическим и эндоскопическим данным зафиксировано снижение частоты развития поздних рубцовых стриктур пищеводно-толстокишечного анастомоза с 28,6 до 5,0 % ($p = 0,048$). Корреляционный анализ по Спирмену позволил выявить следующие связи между изучаемыми переменными. Отсутствие рубцовой стриктуры анастомоза и рефлюкс-эзофагита связано с наличием васкуляризации, формированием анастомоза конец в конец и ликвидацией факторов компрессии на трансплантат ($p = 0,480$, $p < 0,001$). Наличие рефлюкса желчи, как правило, предшествовало развитию рубцовой стриктуры анастомоза ($p = 0,493$, $p = 0,001$) и зачастую являлось следствием расположения трансплантата из левого фланга в антиперистальтической позиции ($p = 0,765$, $p < 0,0001$). Формирование рубцовой стриктуры анастомоза также, в свою очередь, было связано с наличием рефлюкса желчи ($p = 0,493$, $p < 0,001$) и расположением трансплантата из левого фланга в антиперистальтической позиции ($p = 0,340$, $p = 0,029$).

Изложенное выше свидетельствует об улучшении результатов лечения за счет снижения в послеоперационном периоде летальных исходов, обусловленных ишемическими осложнениями.

Заключение. Разработанный метод повторной и отсроченной реконструкции пищевода, включающий формирование ретростерального тоннеля, ликвидацию костного и мышечного факторов компрессии на трансплантат, формирование анастомоза трансплантата с пищеводом конец в конец, позволяет технически осуществить пластику пищевода с помощью трансплантата, сформированного из ободочной кишки, по показаниям создать возможность его дополнительного кровоснабжения, избежать сдавления в ретростеральном тоннеле при проведении на шею и обеспечить функциональность эзофагоколопластики.

Технологически разработанный метод может иметь четыре основные модификации, отличающиеся используемыми сегментами кишки, сосудистыми ножками и позицией трансплантата. С учетом индивидуальных особенностей ангиоархитектоники реконструкция пищевода может быть дополнена созданием источника кровоснабжения для повышения жизнеспособности толстокишечного трансплантата. Показаниями для сосудистого усиления являются сужение или перерыв дуги Риолана и сужение или перерыв краевого питающего трансплантат сосуда.

Применение метода позволяет улучшить непосредственные результаты эзофагоколопластики за счет снижения общей частоты послеоперационных (с 57,1 до 15,0 %) и ишемических (некроз и/или несостоятельность) осложнений (с 33,3 до 5,0 %), а также отдаленные результаты пластики за счет снижения частоты развития рубцовой стриктуры пищеводно-толстокишечного анастомоза с 28,6 до 5,0 %, не оказывая влияния на частоту и структуру послеоперационных осложнений, госпитальную и 30-дневную летальность.

Разработанный метод реконструкции пищевода позволяет повысить показатели общей выживаемости по сравнению с контрольной группой (1-летней выживаемости – от $43,2 \pm 11,4$ до $66,7 \pm 11,4$ %, 3-летней – от $21,6 \pm 10,5$ до $34,3 \pm 13,2$ %) благодаря снижению показателей послеоперационной летальности, обусловленной ишемическими осложнениями.

Список использованной литературы

1. Total oesophagectomy for squamous cell carcinoma with or without standard two field node dissection – a prospective study / S. V. Shah [et al.] // *Indian J. Surg. Oncol.* – 2013. – Vol. 4, N 4. – P. 336–340.
2. Characteristics of recurrence after radical esophagectomy with two-field lymph node dissection for thoracic esophageal cancer / C. L. Li [et al.] // *Oncol. Lett.* – 2013. – Vol. 5, N 1. – P. 355–359.
3. Esophagectomy for cancer of the esophagus. A regional cancer centre experience / M. Vijayakumar [et al.] // *Indian J. Surg. Oncol.* – 2013. – Vol. 4, N 4. – P. 332–335.
4. Application of colonic interposition in the digestive tract reconstruction after esophagectomy / L. Peng [et al.] // *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi.* – 2011. – Vol. 14, N 9. – P. 695–698.
5. Клиническое обоснование одноэтапной заградной эзофагоколопластики в лечении больных с послеожоговой рубцовой стриктурой пищевода / А. В. Воробей [и др.] // *Медицина.* – 2009. – № 4. – С. 52–56.
6. Predictors of major morbidity and mortality after esophagectomy for esophageal cancer: a Society of Thoracic Surgeons General Thoracic Surgery Database risk adjustment model / C. D. Wright [et al.] // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2009. – Vol. 137, N 3. – P. 587–595.
7. Predictors and outcome of cervical anastomotic leakage after esophageal cancer surgery / A. Aminian [et al.] // *J. Cancer Res. Ther.* – 2011. – Vol. 7, N 4. – P. 448–453.
8. Predictors of anastomotic leak after esophagectomy: an analysis of the society of thoracic surgeons general thoracic database / E. S. Kassis [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* – 2013. – Vol. 96, N 6. – P. 1919–1926.
9. Two-stage operation for high-risk patients with thoracic esophageal cancer: an old operation revisited / M. Morita [et al.] // *Ann. Surg. Oncol.* – 2011. – Vol. 18, N 9. – P. 2613–2621.
10. Новые подходы к лечению внутриплевральных осложнений в хирургии рака пищевода / В. Т. Малькевич [и др.] // *Новости хирургии.* – 2012. – Т. 20, № 3. – С. 74–80.
11. Ильин, И. А. Экспериментально-клиническое обоснование комплекса противоишемических мероприятий при эзофагоколопластике / И. А. Ильин, В. Т. Малькевич // *Онкол. журн.* – 2014. – Т. 8, № 2. – С. 35–43.
12. Expanding the applications of microvascular surgical techniques to digestive surgeries: a technical review / H. Uchiyama [et al.] // *Surg. Today.* – 2012. – Vol. 42, N 2. – P. 111–120.
13. *Awsakulsutthi, S.* Result of esophageal reconstruction using supercharged interposition colon in corrosive and Boerhaave's injury: Thammasat University Hospital experience / S. Awsakulsutthi // *J. Med. Assoc. Thai.* – 2010. – Vol. 93, N 7. – P. 303–306.
14. Чакиев, А. М. Возможность применения микрохирургических сосудистых анастомозов при эзофагопластике / А. М. Чакиев // *Вестн. Кыргыз.-Рос. Славян. ун-та.* – 2008. – Т. 8, № 5. – С. 23–25.
15. “Supercharged” isoperistaltic colon interposition for long-segment esophageal reconstruction / K. A. Kesler [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* – 2013. – Vol. 95, N 4. – P. 1162–1168.

Поступила в редакцию 28.01.2016

УДК 612.17:612.335:579.864.1/873.13

Е. В. МАРЦИНКЕВИЧ, В. В. СОЛТАНОВ

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКОВ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРДЦА И ТОЛСТОЙ КИШКИ КРЫС

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: lmartinkevich@mail.ru

Установлено, что длительное (10 сут) применение в рационе питания пробиотиков приводит к сокращению продолжительности периода реполяризации, увеличению электрической диастолы сердца («Диалакт»), интенсификации процессов возбуждения в миокарде предсердий и желудочков («Бифидумбактерин»). При этом показатели вариабельности сердечного ритма свидетельствуют об ослаблении холинергических и одновременном усилении адренергических влияний на сердечную деятельность. Однако зафиксированные функциональные альтерации не сопровождались изменением гистологической картины миокарда. Изучение микробиологического профиля толстой кишки выявило возрастание общего титра пробиотической флоры, что сопряжено с элиминацией условно-патогенных представителей. Микроскопическая картина нисходящей ободочной кишки соответствовала морфологическим критериям нормы в тех же условиях.

Ключевые слова: пробиотики, кишечник, сердце.

E. V. MARTSYNKEVICH, V. V. SOLTANOV

EFFECT OF ADMINISTRATION OF PROBIOTICS ON THE MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL STATUS OF HEART AND COLON OF THE RATS

*Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus,
e-mail: lmartinkevich@mail.ru*

A long-term (10 days) use of probiotics in the diet leads to a shortened re-polarization period, an increase in the electrical diastole of the heart (“Dialakt”), the intensification of excitation processes in the myocardium of the atria and ventricles (“Bifidumbacterin”). At the same time, the indicators of heart rate variability point to the weakening of the effects of choline and the simultaneous strengthening – adrenergic effects on the heart. However, the fixed functional alterations were not accompanied by changes in myocardial histology. The study of the microbial profile of the colon revealed a general increase in the titer of the probiotic flora, which was associated with the elimination of opportunistic representatives. The smears of the descending colon were consistent with the morphological criteria of standards in the same conditions.

Keywords: probiotics, colon, heart.

Введение. В настоящее время термин «пробиотики» применяют преимущественно для обозначения фармакологических препаратов или биологически активных добавок, содержащих штаммы одного или нескольких представителей нормальной микрофлоры человека и животных и/или микробные метаболиты, благотворно влияющие на организм человека [1]. Доказано, что бактериальные препараты участвуют в образовании свободных аминокислот (аргинина, триптофана, тирозина и др.), органических кислот (регулируют внутрипросветный уровень pH), олигосахаридов, короткоцепочечных жирных кислот, биоактивных пептидов (микроцинов, составляющих группу эндогенных антибиотиков), конкурентно взаимодействуют с молекулами адгезии для патогенов, оказывают антиоксидантное, иммуностимулирующее действие, нейтрализуют пищевые канцерогены и влияют на синтез витаминов группы В (В₂, В₉, В₁₂), К, Е, биотина [2–4].

Современные исследования подтверждают, что применение пробиотических продуктов способствует улучшению функционального состояния эпителия кишечника [5]. В экспериментах *in vitro* установлено, что вырабатываемые пробиотиками метаболиты способны влиять на прони-

цаемость кишечного барьера. В наблюдениях на животных и у человека продемонстрировано восстановление нарушенной эпителиальной проницаемости при применении препаратов данной группы [6]. Одновременно с этим микроорганизмы-пробиотики не только обладают бактериостатическим действием в отношении патогенной флоры, но и способствуют нейтрализации высвобождающихся при этом токсических микробных метаболитов [7]. Показана высокая эффективность клинического применения пробиотиков в дерматологии, акушерстве, гинекологии, стоматологии (в том числе хирургической), при заболеваниях опорно-двигательного аппарата, ревматизме, туберкулезе, сахарном диабете и других патологиях [8].

В настоящее время во всем мире в терапевтических и профилактических целях уже применяют широкий спектр пробиотиков, несмотря на то что их эффективность все еще изучается. Тем не менее, теоретические предпосылки и накопленный экспериментальный опыт носят обнадеживающий характер и предполагают перспективность дальнейших исследований в области применения пробиотиков, создания продуктов питания и лекарственных препаратов на их основе для лечения и профилактики ряда заболеваний.

Цель настоящего исследования – установить особенности действия длительно применяемых с пищей пробиотиков на структурно-функциональные показатели деятельности сердца и кишечника.

Материалы и методы исследования. Исследования проведены на крысах-самцах ($n = 36$) начальной массой $230 \pm 2,0$ г с соблюдением принципов гуманного отношения к лабораторным животным. Все крысы содержались в стандартных условиях вивария. Контролем служили интактные крысы (группа 1, $n = 16$). Экспериментальным животным к основному рациону дополнительно интрагастрально на протяжении 10 сут вводили пробиотик «Диалакт» («Диалек», Беларусь) в количестве 2 мл, содержащий $5 \cdot 10^8$ КОЕ лактобактерий (группа 2, $n = 10$), или пробиотик «Бифидумбактерин» («Диалек», Беларусь) также в количестве 2 мл, содержащий 10^7 КОЕ бифидобактерий (группа 3, $n = 10$). Расчет доз проводился согласно инструкции к препаратам фирмы-производителя («Диалек», Беларусь) и содержанию лакто- и бифидобактерий в кишечнике крысы [9].

Электрокардиограмму (ЭКГ) регистрировали во II стандартном отведении в остром опыте [10]. Анализ ее основных характеристик – частоты сердечных сокращений (ЧСС), длительности интервалов, амплитуды зубцов и показателей variability сердечного ритма (BCP – $SDNN$, CV , $RMSSD$, $MxDMn$, Mo , AMo) проводили при помощи программы Inputwin, разработанной в Институте физиологии НАН Беларуси [11]. Исследование микрофлоры полостного содержимого кишечника осуществляли культуральным методом в соответствии с действующими инструкциями, как описано в [12]. Анализ микрофлоры пристеночного муцина проводили в соответствии с методическими указаниями [13]. Отбирали биоптаты нисходящей ободочной кишки массой $120,0 \pm 0,5$ мг, свободные от химуса. Биологический материал помещали в стерильный изотонический раствор хлорида натрия в соотношении 1 мг ткани к 100 мкл раствора на 2 ч для разжижения муцина. Затем пробирку встряхивали на приборе TTS 3 digital Yellow line (Китай) в течение 30 с до получения однородной микробной суспензии и готовили 10-кратные разведения от 10^{-1} до 10^{-4} . Из полученных разведений проводили высеивание на дифференциально-диагностические среды.

Для культивирования лактобактерий (*Lactobacillus* spp.) использовали полужидкую среду МРС-2 (Оболенск, Россия) или плотную среду МРС («Биокомпас-С», Россия). Бифидобактерии (*Bifidobacterium* spp.) культивировали на Бифидум-среде (Оболенск, Россия); энтеробактерии (*Enterobacteriaceae*) – на агаре Эндо (Himedia, Индия) и тест-подложках *Rida*[®] *Count E. coli* (R-Riopharm, Германия); стафилококки (*Staphylococcus* spp.) – на кровяном и солевом агарах и тест-подложках *Rida*[®] *Count S. aureus* (R-Riopharm, Германия); дрожжеподобные грибы и плесени – на агаре Сабуро (Оболенск, Россия) и тест-подложках *Rida*[®] *Count Yeast&Mold* (R-Riopharm, Германия) согласно инструкциям производителя. Учет результатов проводили по истечении сроков инкубации по числу выросших колоний в посевах из двух последних разведений, с изучением культуральных, морфологических (микроскопия) и тинкториальных свойств (окраска по Грамму).

Количество выделенных микроорганизмов (КОЕ/г) определяли согласно формуле $K \cdot 10 \cdot n$, где K – количество выросших колоний; n – разведение суспензии; 10 – коэффициент пересчета на 1 см^3 суспензии при посеве $0,1 \text{ см}^3$ ($0,1 \text{ см}^3$ составляет $1/10 \text{ см}^3$). Итоговый результат переводили в десятичный логарифм числа.

Для гистологического исследования изымали участки левого желудочка сердца и стенки нисходящей ободочной кишки, на криостате Micron HM 525 (Германия) готовили криостатные срезы толщиной 10 мкм, окрашивали методом Маллори (1900) и гематоксилин-эозином по общепринятым методикам. Изучение микропрепаратов, морфометрию и изготовление микрофотографий проводили при помощи светового микроскопа MPV-2 (Leitz, Германия) и цифровой фотокамеры Leica. Для определения размеров структурных элементов миокарда в абсолютных единицах проводили калибровку системы анализа изображений, при которой микрометры соответствовали пикселям на экране монитора.

Статистическую обработку результатов осуществляли при помощи программы Statistica 6.0. Показатели распределения данных проверяли тестом Шапиро–Уилка. Для установления статистической значимости результатов использовали t -критерий Стьюдента для независимых выборок. Данные представлены в виде средней величины и стандартной ошибки средней. Данные считались статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что применение пробиотических препаратов сопровождалось изменениями временных характеристик ЭКГ. Через 10 сут после ежедневного внутривентрикулярного (в/ж) введения «Диалакта» (группа 2) зарегистрирована тенденция к снижению ЧСС до $354,3 \pm 5,5$ уд/мин по сравнению с таковой у интактных животных ($373,0 \pm 10,3$ уд/мин) (рис. 1, а). После аналогичного применения «Бифидумбактерина» (группа 3) отмечалась противоположная реакция – тенденция к увеличению ЧСС до $387,6 \pm 7,0$ уд/мин (рис. 1, а).

Наряду с этим выявлено достоверное сокращение интервала $S-T$ на 20,9 и 20,6 % во 2-й и 3-й группах животных соответственно (рис. 1, б), что отражает укорочение периода реполяризации желудочков [14]. Также наблюдалось явное ($P < 0,05$) удлинение сегмента $T-P$ на 37,4 % у особей 2-й группы (рис. 1, б), свидетельствующее о пролонгировании периода электрической диастолы сердца [14]. Остальные интервалы ($P-R$, $R-S$, $T-P$) статистически значимых модификаций не претерпевали.

Описанные альтерации в деятельности сердца в целом указывают на их положительное влияние на сократительную активность миокарда путем повышения интенсивности систолических сокращений и увеличения длительности диастолической паузы.

Показатели ВСР после применения «Бифидумбактерина» указывают на ослабление эффектов нисходящих регуляторных влияний блуждающего нерва и одновременно на усиление адренергических структур на деятельность сердца. Об этом свидетельствовало снижение ($P < 0,05$)

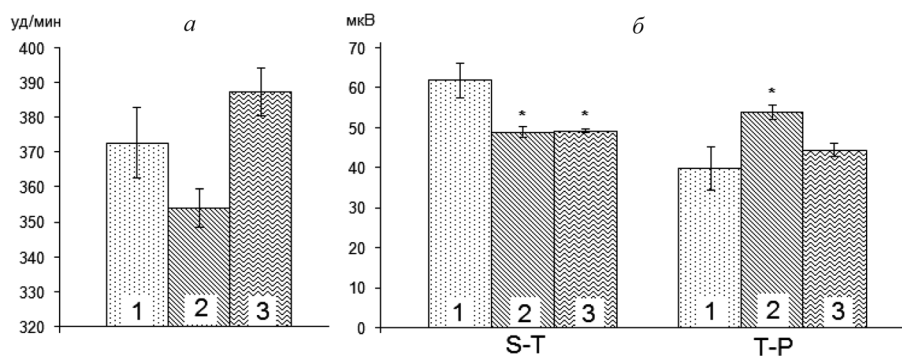


Рис. 1. Показатели ЧСС (а), интервалов и сегментов ЭКГ (б) у крыс на стандартном рационе питания (группа 1, $n = 8$) и после внутривентрикулярного введения «Диалакта» (группа 2, $n = 8$) или «Бифидумбактерина» (группа 3, $n = 9$) в дозах $5 \cdot 10^8$ КОЕ лактобактерий или 10^7 КОЕ бифидобактерий соответственно в течение 10 сут. Здесь и далее знаком * обозначены достоверные различия относительно показателей крыс, находившихся на стандартном рационе питания ($P < 0,05$)

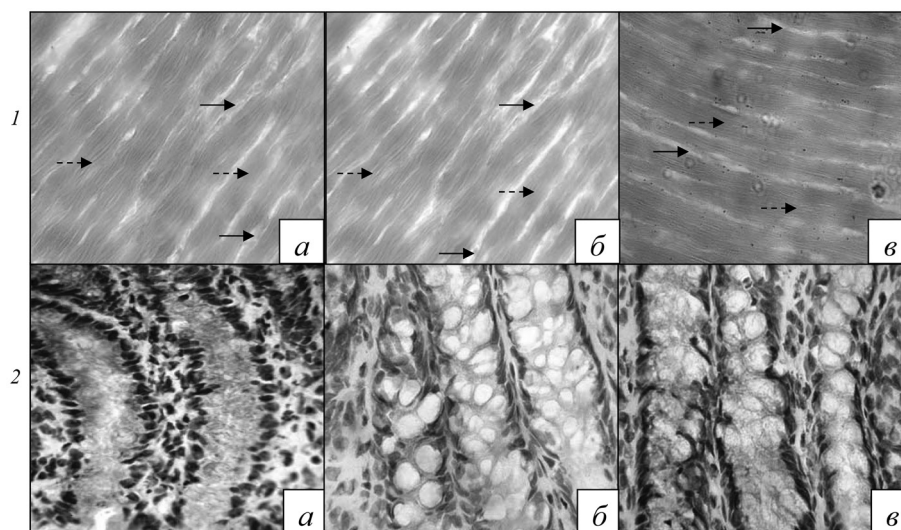


Рис. 2. Микроскопическая картина миокарда (1) и фрагментов стенки нисходящей ободочной кишки (2) крыс в условиях стандартного питания (а) и после длительного (10 сут) применения пробиотиков «Диалакт» (б) и «Бифидумбактерин» (в). Окраска миокарда методом Маллори, нисходящей ободочной кишки – гематоксилин-эозином ($\times 40$). Сплошными стрелками обозначена соединительная ткань в интерстициальном пространстве, пунктирными – кардиомиоциты

вариационного размаха $MxMDn$, характеризующего холинергические влияния, на 16,1 % и увеличение ($P < 0,05$) амплитуды моды AMo , величина которой пропорциональна активности симпатического отдела регуляции, на 17,4 % в соответствии с общепринятыми стандартами. Однако не наблюдалось статистически значимых альтераций стандартного отклонения всех $R-R$ интервалов ($SDNN$), отражающего состояние ваго-симпатического баланса. При приеме пробиотика «Диалакт» отклонений в показателях ВСП не зафиксировано.

Определенные изменения функциональных показателей деятельности сердца не сопровождались его структурным преобразованием [15]. Диаметр кардиомиоцитов в контроле составил $9,8 \pm 0,7$ мкм, в группе 2 – $9,1 \pm 0,8$, в группе 3 – $8,9 \pm 1,1$ мкм. Важным фактом является отсутствие разрастания соединительной ткани в миокарде (рис. 2, 1, б, в).

Представленные данные дают основание считать, что в отмеченных условиях пробиотики не влияют существенно на структурную характеристику сердца, изменяя, тем не менее, ряд функциональных показателей. Учитывая последнее обстоятельство, а также тот факт, что пробиотики, сами являясь микроорганизмами, могут оказывать самостоятельное влияние на другие органы [16], нами оценено состояние микрофлоры толстой кишки крыс, тесно связанной функционально с сердечно-сосудистой системой.

Микробиологический анализ фекального микробиоценоза выявил достоверные изменения количественного состава микрофлоры у животных экспериментальных групп по отношению к показателям в контрольной группе. Так, у животных, употреблявших «Диалакт» или «Бифидумбактерин», зафиксировано достоверное повышение общего пула лактобацилл до $8,80 \pm 0,03$ и $8,78 \pm 0,03$ log КОЕ/г соответственно (при $8,52 \pm 0,06$ log КОЕ/г в контроле). Анализ грамположительной флоры выявил снижение ($P < 0,05$) в биологических образцах титра стафилококков (*St. epidermidis*) с $4,77 \pm 0,05$ log КОЕ/г у интактных особей до $4,61 \pm 0,04$ и $4,60 \pm 0,04$ log КОЕ/г при введении в рацион «Диалакта» или «Бифидумбактерина» соответственно. Также зафиксировано падение ($P < 0,05$) удельного содержания дрожжеподобных грибов и плесеней с $4,23 \pm 0,08$ log КОЕ/г до $4,00 \pm 0,03$ и $3,97 \pm 0,02$ log КОЕ/г у животных обеих экспериментальных групп, принимавших «Диалакт» или «Бифидумбактерин» соответственно. Данные представлены на рис. 3.

Выявлено, что экзогенная нагрузка препаратами, содержащими лактобациллы и бифидобактерии в рамках физиологической нормы, не ведет к существенным изменениям видового и количественного состава микробного представительства просветного биотопа толстого кишечника,

Просветный биотоп

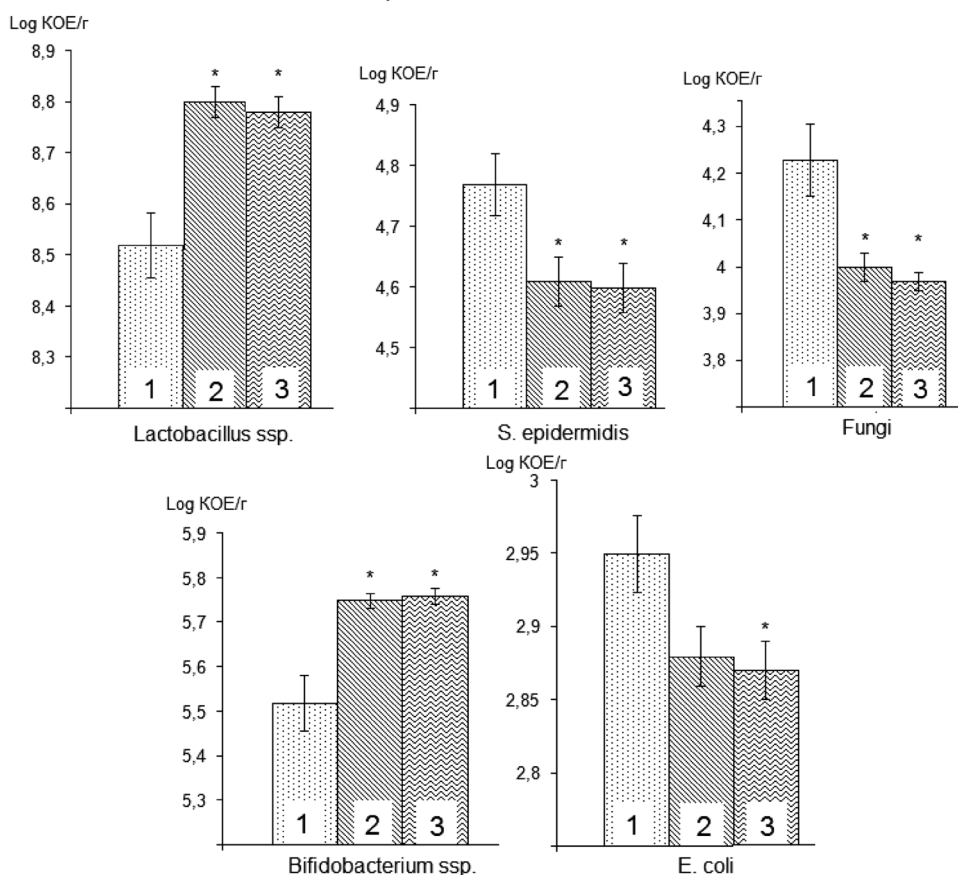


Рис. 3. Микробиологический профиль толстой кишки крыс, находившихся на стандартном рационе питания (группа 1, $n = 10$) и после внутрижелудочного введения «Диалакта» (группа 2, $n = 10$) или «Бифидумбактерина» (группа 3, $n = 10$) в дозах $5 \cdot 10^8$ КОЕ лактобактерий или 10^7 КОЕ бифидобактерий соответственно в течение 10 сут

поскольку фекальный микробиоценоз уже достигает пределов своего насыщения как по числу, так и по объему составляющих его популяций [17].

При анализе состава пристеночного муцина в экспериментальных группах обнаружено достоверное изменение структуры микробиоценоза. В муцине крыс 2-й и 3-й групп зафиксировано возрастание удельного содержания бифидобактерий до $5,75 \pm 0,02$ и $5,76 \pm 0,02$ log КОЕ/г ($P < 0,05$) соответственно (в контроле $5,52 \pm 0,06$ log КОЕ/г). В муцине животных 3-й группы также наблюдалось достоверное снижение общего титра *E. coli* с положительной ферментацией с $2,95 \pm 0,03$ до $2,87 \pm 0,02$ log КОЕ/г ($P < 0,05$). Данные представлены на рис. 3.

Биотоп пристеночного муцина занимает особое место при исследовании микробиоценозов различных отделов желудочно-кишечного тракта, в частности кишечника. Согласно литературе, на протяжении всей кишечной стенки происходит постоянное обновление эпителиальных клеток, изменение физико-химического состава и скорости секреции муцина [18]. Учитывая способность микроорганизмов нормальной микрофлоры к специфической адгезии к определенным видам клеток эпителия, а также их закономерную зависимость от количества и качества питательного субстрата и микроокружения, нельзя исключить существенную роль анатомо-морфологического фактора в изменчивости характеристик биотопа муцинового слоя кишечной стенки. Состояние пристеночного муцина неразрывно связано с морфофункциональным состоянием кишечной стенки и находится в тесных донорско-акцепторных взаимоотношениях с фекально-просветной микрофлорой [13]. Поэтому мы предположили, что изменения микрофлоры пристеночного слоя муцина могут привести к структурной организации кишечной стенки.

Анализ морфометрических показателей стенки нисходящей ободочной кишки (рис. 2, 2, б, в) крыс, получавших «Диалакт» или «Бифидумбактерин», не выявил достоверных изменений в структуре

изучаемого отдела кишечника. Однако, несмотря на сохранение количества секреторных экзокриноцитов, выявлено увеличение их объема, что, вероятно, обусловлено усилением синтеза муцина из-за стимуляции гена, кодирующего секрецию муцинов слизи (*MUC-3*) [19], а также увеличение образования полиаминов, являющихся гормоноподобными веществами, которые интенсифицируют метаболические процессы в кишечном эпителии [20].

В процессе исследования длительно применяемых с пищей пробиотиков на структурно-функциональный статус кишечника и сердца установлены следующие факты. Употребление «Диалакта» или «Бифидумбактерина» (препаратов белорусского производителя) на протяжении 10 сут способствует сохранению структуры микробоценоза толстой кишки крыс. Анализ микробиологического профиля толстой кишки при введении в рацион пробиотиков выявил возрастание популяций лактобацилл (полостной микробоценоз) и бифидобактерий (пристеночный муцин), снижение титра условно-патогенных представителей как в просвете, так и в пристеночном слое муцина толстой кишки. Гистологический и морфометрический анализ ткани нисходящей ободочной кишки крыс показал практически полное соответствие их строения критериям нормы, за исключением наличия увеличенных в объеме бокаловидных клеток крипт вследствие усиления секреции слизи, что способствует сохранению целостности кишечного барьера и предотвращению транслокации бактерий и их метаболитов в общую циркуляцию. Это объясняет, вероятно, такие незначительные альтерации в показателях ЭКГ, как пролонгирование диастолы и укорочение периода реполяризации желудочков. Известно, что бактериальные метаболиты могут оказывать самостоятельное влияние на волокна и нервные центры, изменяя работу ряда органов [21].

Заключение. Таким образом, выявленные изменения сердечной деятельности и структурно-функциональные преобразования в толстой кишке при экзогенной нагрузке пробиотическими микроорганизмами в целом указывают на положительные влияния и отсутствие отрицательных эффектов при введении в пищевой рацион «Диалакта» и «Бифидумбактерина».

Длительное (10 сут) применение в рационе питания пробиотиков приводит к сокращению продолжительности периода реполяризации, а «Диалакт» вызывает увеличение электрической диастолы сердца в тех же условиях. Учитывая отсутствие четко выраженных изменений ЧСС, можно сделать заключение о сохранении процессов возникновения и распространения электрической волны по отделам сердца в пределах нормы. Кроме того, препарат на основе бифидобактерий вызывает интенсификацию процессов возбуждения в миокарде предсердий и желудочков, а показатели ВСР свидетельствуют об ослаблении холинергических и одновременном усилении адренергических влияний на сердечную деятельность. Наряду с этим зафиксированные функциональные альтерации не сопровождались изменением гистологической картины миокарда. Изучение микробиологического профиля толстой кишки выявило возрастание общего титра лакто- и бифидобактерий, что сопряжено с элиминацией условно-патогенных представителей. При этом микроскопическая картина нисходящей ободочной кишки соответствовала морфологическим критериям нормы, за исключением гипертрофии секреторных экзокриноцитов, связанной, вероятно, с увеличением продукции слизи, способствующей укреплению кишечного барьера.

Список использованной литературы

1. Practice Guideline – Probiotics and Prebiotics / World Gastroenterology Organization. – Montreal, 2005. – 22 p.
2. Пробиотики и пребиотики в клинической практике / И. В. Маев [и др.] // Фарматека. – 2011. – № 5. – С. 33–41.
3. Impact of probiotics on risk factors for cardiovascular diseases: a review / B. Ebel [et al.] // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. – 2014. – Vol. 54. – P. 175–189.
4. Folate production by *Bifidobacteria* as a potential probiotic property / A. Pompei [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 2007. – Vol. 73. – P. 179–185.
5. Андреева, И. В. Потенциальные возможности применения пробиотиков в клинической практике / И. В. Андреева // Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер. – 2006. – Т. 8, № 2. – С. 151–172.
6. Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function / K. Madsen [et al.] // Gastroenterology. – 2001. – Vol. 121. – P. 580–591.
7. Ливзан, М. А. Место пробиотической терапии в лечении и профилактике антибиотик-ассоциированной диареи / М. А. Ливзан, М. Б. Костенко // Леч. врач. – 2010. – № 10. – С. 83–84.
8. Использование больших доз пробиотика Бифидумбактерина форте в лечении ОРВИ у детей: клин. и иммунобиол. результаты / А. А. Воробьев [и др.] // Эпидем. и инфекц. болезни. – 2004. – № 5. – С. 43–46.

9. *Интизаров, М. М.* Микрофлора тела животных / М. М. Интизаров. – М., 1994. – 20 с.
10. *Марцинкевич, Е. В.* Висцерокардиальные эффекты, инициируемые глюкозой, вводимой в двенадцатиперстную кишку / Е. В. Марцинкевич // *Новости мед.-биол. наук.* – 2012. – Т. 6, № 3. – С. 27–31.
11. Программный продукт Inputwin для регистрации и анализа электрофизиологических данных / О. А. Азев [и др.] // *Новости мед.-биол. наук.* – 2010. – Т. 2, № 4. – С. 152–155.
12. *Марцинкевич, Е. В.* Влияние пробиотиков на состояние микрофлоры толстого кишечника крыс при формировании хронической сердечной недостаточности / Е. В. Марцинкевич, А. Д. Гавриленя // *Проблемы здоровья и экологии.* – 2013. – № 3 (37). – С. 114–117.
13. Особенности микробиоценоза пристеночного муцина желудочно-кишечного тракта крыс / А. А. Воробьев [и др.] // *Журн. микробиол.* – 2005. – № 6. – С. 3–7.
14. *Рощевская, И. М.* Кардиоэлектрическое поле теплокровных животных и человека / И. М. Рощевская. – СПб., 2008. – 250 с.
15. Атлас по гистологии, цитологии и эмбриологии / С. Л. Кузнецов [и др.]. – М., 2007. – 600 с.
16. Микрофлора кишечника у больных хронической сердечной недостаточностью как возможный фактор возникновения и генерализации системного воспаления / Г. П. Арутюнов [и др.] // *Сердеч. недостаточность.* – 2003. – Т. 4, № 5. – С. 256–260.
17. Исследование пристеночной микрофлоры желудочно-кишечного тракта при пероральном введении пробиотических препаратов / Е. А. Богданова [и др.] // *Вестн. Рос. АМН.* – 2006. – № 2. – С. 6–10.
18. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника / Л. И. Аруин [и др.]. – М., 1998. – С. 342–347.
19. Inability of *Lactobacillus casei* strain GG, *L. acidophilus*, and *Bifidobacterium bifidum* to degrade intestinal mucus glycoproteins / J. G. Rusler-van Embden [et al.] // *Scand. J. Gastroenterol.* – 1995. – Vol. 30, N 7. – P. 675–680.
20. Cytoskeletal proteins and resident flora / L. Biancone [et al.] // *Dig. Liver Dis.* – 2002. – Vol. 34, N 2. – P. 34–36.
21. *Солтанов, В. В.* Эндотоксины и нейрогуморальные механизмы регуляции вегетативных функций / В. В. Солтанов // *Новости мед.-биол. наук.* – 2009. – № 4. – С. 109–119.

Поступила в редакцию 09.10.2015

УДК 616.12-008.331:616.39J-008.9

Н. Т. ВАТУТИН^{1,2}, А. Н. ШЕВЕЛЕК¹, А. Э. ДЕГТЯРЕВА¹, И. А. ПЕРУЕВА¹

ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТОВ МИНЕРАЛОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА УРОВЕНЬ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНОЙ МАССОЙ ТЕЛА

*¹Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, Донецк, Украина,
e-mail: An_home@mail.ru*

²Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В. К. Гусака, Донецк, Украина

Гиперальдостеронемия играет важную роль в патогенезе резистентной артериальной гипертензии (АГ). Повышенная активность альдостерона нередко наблюдается и у лиц с избыточным весом. Антагонисты минералокортикоидных рецепторов (МКР) могут использоваться при лечении резистентной АГ у таких пациентов, однако взаимосвязь между эффективностью их применения и массой тела не изучена.

Проведена сравнительная оценка эффективности антагонистов МКР при комплексном лечении пациентов с резистентной АГ, имеющих нормальный вес, избыточную массу тела и страдающих от ожирения.

В исследовании приняли участие 54 пациента (21 мужчина и 33 женщины, средний возраст $54,5 \pm 7,1$ года) с резистентной АГ, у которых исходный уровень офисного артериального давления (АД) был выше 140/90 мм рт. ст., несмотря на прием трех антигипертензивных препаратов, включая диуретик. Основными критериями исключения являлись наличие у пациента вторичной АГ и первичного гиперальдостеронизма. Пациенты были разделены на две группы: в 1-ю ($n = 24$) вошли лица с индексом массы тела (ИМТ) менее 25 кг/м^2 , во 2-ю ($n = 30$) – с ИМТ 25 кг/м^2 и более. Всем пациентам дополнительно был назначен антагонист МКР спиронолактон в дозе 25 мг/сут с последующим титрованием до 50 мг/сут при отсутствии достижения целевых цифр АД. Исходно и спустя 6 мес. после лечения всем пациентам измеряли офисное АД, проводили мониторинг АД с оценкой среднесуточного систолического (САД) и диастолического (ДАД) АД.

Исходно существенных различий по уровню среднесуточного АД ($141,2 \pm 3,6/84,7 \pm 2,4$ мм рт. ст. – в 1-й группе и $141,2 \pm 3,9/84,2 \pm 1,8$ мм рт. ст. – во 2-й) и антигипертензивной терапии между пациентами групп не было ($p > 0,05$). За период лечения в обеих группах было достигнуто достоверное ($p < 0,05$) снижение среднесуточного САД и ДАД по сравнению с исходным уровнем, более выраженное ($p = 0,02$) во 2-й группе (в среднем на $11,7 \pm 0,5/5,8 \pm 1,4$ мм рт. ст.), чем в 1-й (в среднем на $8,9 \pm 0,7/3,9 \pm 1,5$ мм рт. ст.). Целевые цифры среднесуточного АД были достигнуты у 12 (50 %) пациентов 1-й группы и у 24 (80 %) – 2-й ($\chi^2 = 4,13; p = 0,04$).

Добавление антагонистов МКР к комплексному лечению пациентов с резистентной АГ позволило снизить АД, особенно у лиц с избыточной массой тела и ожирением.

Ключевые слова: резистентная артериальная гипертензия, антагонисты минералокортикоидных рецепторов, индекс массы тела, избыточная масса тела, ожирение.

M. T. VATUTIN^{1,2}, A. M. SHEVELOK¹, G. E. DEGTJAROVA¹, I. O. PERUEVA¹

EFFECT OF MINERALOCORTICOID RECEPTOR ANTAGONISTS ON THE ARTERIAL BLOOD PRESSURE LEVEL IN PATIENTS WITH DIFFERENT BODY MASS

¹M. Gorkiy Donetsk Medical National University, Donetsk, Ukraine, e-mail: An_home@mail.ru

²V. K. Gusak Institute of Emergency and Reconstructive Surgery, Donetsk, Ukraine

Hyperaldosteronism plays a crucial role in the pathogenesis of resistant arterial hypertension. Increased aldosterone concentration often follows obesity. Mineralocorticoid receptor antagonists are expected to reduce the blood pressure (BP) in hypertensive patients, but the correlation between their efficiency and the body mass of patients has not been yet found.

The efficiency of mineralocorticoid receptor antagonists in the complex therapy of resistant arterial hypertension in patients with normal body mass, overweight and obesity was compared in this study.

The study included 54 non-black patients (21 men, 33 women, the mean age 54.5 ± 7.1 years) with resistant arterial hypertension defined as the baseline office BP of more than 140/90 mm Hg despite an intensive treatment with at least three antihypertensive agents, one of which was a diuretic. The main exclusion criteria were the secondary hypertension and the

primary hyperaldosteronism. All patients were divided into 2 groups: 1st group ($n = 24$) included patients with the body mass index (BMI) $< 25 \text{ kg/m}^2$, 2nd one ($n = 30$) consisted of people with the increased BMI ($\geq 25 \text{ kg/m}^2$). Mineralocorticoid receptor antagonist spironolactone (25–50 mg/d) was additionally prescribed to all patients. On the baseline and after 6 month of treatment all patients underwent office BP measurements and 24-hour BP measurements with the mean systolic and diastolic BP assessment.

There were no significant differences in the level of the mean 24-hour BP ($141.2 \pm 3.6/84.7 \pm 2.4 \text{ mm Hg}$ in the 1st group and $141.2 \pm 3.9/84.2 \pm 1.8 \text{ mm Hg}$ in the 2nd group) and antihypertensive therapy between the groups on the baseline ($p > 0.05$). After 6 month the mean 24-hour systolic and diastolic BP significantly reduced in the both groups ($p < 0.05$) with the greatest decrease ($p = 0.02$) in the 2nd group (mean $11.7 \pm 0.5/5.8 \pm 1.4 \text{ mm Hg}$) in comparison to the 1st group (mean $8.9 \pm 0.7/3.9 \pm 1.5 \text{ mm Hg}$). The target BP level was achieved in 12 (50 %) patients of the 1st group and in 24 (80 %) patients of the 2nd one ($\chi^2 = 4.13$, $p = 0.04$).

Addition of mineralocorticoid receptor antagonists to the complex therapy of resistant arterial hypertension leads to a BP decrease, especially in patients with overweight and obesity.

Keywords: resistant arterial hypertension, blood pressure, mineralocorticoid receptor antagonists, body mass index, overweight, obesity.

Введение. Артериальная гипертензия (АГ) – одно из наиболее распространенных заболеваний сердечно-сосудистой системы. АГ страдает каждый четвертый житель нашей планеты, и она является одной из ведущих причин снижения трудоспособности, инвалидизации и смертности населения всего Земного шара [1]. Несмотря на большой арсенал безопасных и эффективных антигипертензивных препаратов, далеко не у каждого пациента удается достичь целевого уровня артериального давления (АД). В определенной мере это связано с все большей распространенностью резистентной АГ, которая, по разным данным, составляет от 10 до 30 % всех случаев АГ [2].

Клинические и экспериментальные исследования демонстрируют тесную взаимосвязь между резистентной АГ и избытком жировой ткани, а авторы современных работ, подробно изучающие механизмы резистентной АГ, не исключают вклада гиперальдостеронизма в ее развитие [3, 4]. Так, имеются данные, что первичный гиперальдостеронизм (ПГА) является причиной почти четверти всех случаев резистентных АГ [5, 6]. Результаты крупного исследования Framingham Offspring Study с участием 1688 пациентов также демонстрируют прямую взаимосвязь между повышенным уровнем альдостерона плазмы и высоким АД [7].

В то же время механизм возникновения резистентной АГ у пациентов с избытком жировой ткани понятен не до конца. Вероятно, ее причиной также является гиперальдостеронизм, возникающий вторично вследствие избыточной продукции этого гормона надпочечниками и самими адипоцитами. Таким образом, не исключено, что у лиц с избытком жировой ткани чрезмерная активация одновременно нескольких механизмов продукции альдостерона приводит к существенному увеличению концентрации этого гормона в организме и запускает множество патологических путей возникновения АГ. В связи с этим есть основания полагать, что антагонисты минералокортикоидных рецепторов (МКР) будут более эффективны в лечении резистентной АГ у лиц с избыточной массой тела и ожирением, однако эта гипотеза еще не изучена.

Цель данного исследования – сравнительная оценка эффективности антагонистов минералокортикоидных рецепторов в комплексном лечении пациентов с резистентной артериальной гипертензией, имеющих нормальный вес, избыточную массу тела и страдающих ожирением.

Материалы и методы исследования. После подписания информированного согласия, скринировано 65 пациентов с подозрением на наличие резистентной АГ. Критериями исключения являлись: прием антагонистов МКР на момент скрининга, наличие вторичной АГ, в том числе ПГА, болезни Аддисона, сахарного диабета (СД) первого типа, инфаркта миокарда или острого нарушения мозгового кровообращения в течение предшествующих 3 мес., нестабильной стенокардии, других заболеваний в стадии декомпенсации, выявленных при осмотре или по данным амбулаторной карты пациента, уровень К плазмы более $5,5 \text{ ммоль/л}$, Na плазмы – 136 ммоль/л , креатинина – более 220 мкмоль/л , скорость клубочковой фильтрации – 60 мл/мин , беременность, алкогольная и наркотическая зависимость. Все пациенты подверглись wash-out периоду, который предусматривал отмену антигипертензивных средств центрального действия (если таковые принимались) и титрование доз основных групп препаратов до максимально переносимых.

Пациенты были обучены самостоятельному измерению АД, им был выдан дневник его домашнего мониторинга, куда они вносили показатели утреннего и вечернего АД. Офисное АД определяли еженедельно во время визита пациента в клинику путем трехкратного измерения АД на обеих плечевых артериях при вертикальном положении пациента, после 10-минутного отдыха. Wash-out период считался оконченным, если пациент принимал назначенные антигипертензивные препараты минимум 4 недели, 2 из которых – в стабильной дозировке. После окончания wash-out периода 8 пациентов выбыли из исследования: у 7 были достигнуты целевые цифры офисного (<140/90 мм рт. ст.) и домашнего (<135/85 мм рт. ст.) АД, что позволило исключить резистентную АГ, у 1 была диагностирована «гипертензия белого халата». Таким образом, в исследование были включены 57 пациентов с резистентной АГ, у которых целевой уровень АД не был достигнут, несмотря на прием трех антигипертензивных препаратов в максимально переносимых дозировках, включая диуретик.

У всех пациентов на этапе их включения в исследование определяли наличие и степень ожирения. С этой целью измеряли их рост и массу тела. Индекс массы тела (ИМТ) рассчитывали как соотношение массы тела (кг) к величине роста (м), возведенной в квадрат. По результатам антропометрии согласно критериям ВОЗ [8], все участники были разделены на две группы: 1-ю ($n = 25$) составили лица с ИМТ < 25 кг/м², 2-ю ($n = 32$) – лица с повышенным ИМТ (≥ 25 кг/м²). Пациентам обеих групп дополнительно был назначен антагонист МКР спиронолактон в дозе 25 мг/сут с последующим титрованием до 50 мг/сут при отсутствии достижения целевых цифр офисного и домашнего АД в течение месяца.

В дальнейшем пациенты наблюдались в течение 6 мес., плановые визиты в клинику проходили каждые 4 недели. На протяжении всего периода лечения они продолжали вести дневник самостоятельного мониторинга АД. Офисное АД измеряли при каждом плановом и внеплановом визите пациента в клинику. Исходно и спустя 6 мес. лечения всем пациентам проводилось мониторирование АД с оценкой среднесуточного систолического (САД) и диастолического (ДАД) АД. Для суточного мониторирования АД использовали аппарат «Кардиотехника-4000АД» («ИНКАРТ», Санкт-Петербург). АД измеряли с интервалом 30 мин днем (6.00–22.00) и каждые 60 мин ночью (22.00–6.00). Критериями адекватности исследования считали продолжительность мониторинга не менее 24 ч, количество считываний – 80 % и более от ожидаемого. Целевыми цифрами среднесуточного АД считали показатель менее 130/80 мм рт. ст., офисного АД – менее 140/90 мм рт. ст. (менее 140/85 мм рт. ст. у пациентов с СД).

Развитие гипотензии, которая расценивалась как снижение домашнего АД до значений менее 90/60 мм рт. ст. либо до индивидуально непереносимых цифр, являлось показанием для уменьшения дозы спиронолактона вдвое, а в случае ее персистенции – для отмены препарата и исключения пациента из исследования.

С целью оценки безопасности терапии спиронолактоном контроль уровня К и креатинина плазмы выполняли по истечении 1-й недели, 3-го и 6-го месяцев терапии, а также через неделю после изменения дозы препарата. Уровень креатинина в сыворотке крови определяли методом спектрофотометрии, уровень К – методом ионометрии. Забор крови проводили утром натощак при вертикальном положении пациента. Референтными значениями считали уровень креатинина 60–110 мкмоль/л для мужчин, 50–100 мкмоль/л для женщин, уровень К – 3,4–5,5 ммоль/л. Дозу спиронолактона уменьшали вдвое при $K > 5,0$ ммоль/л. Препарат отменяли при $K > 5,5$ ммоль/л.

За период наблюдения из исследования выбыли 3 человека: 1 (4 %) – из 1-й группы и 2 (6 %) – из 2-й. Причиной исключения во всех случаях послужило развитие гиперкалиемии (уровень К в крови 5,5 ммоль/л и более). Таким образом, из 57 участников исследование завершили 54 (24 – в 1-й группе и 30 – во 2-й).

Обработку результатов выполняли на персональном компьютере с использованием пакета статистического анализа MedStat. Для проверки распределения на нормальность применяли критерии χ^2 и *W* Шапиро–Уилка. Данные, которые подчинялись нормальному закону стандартного распределения, были представлены как среднее значение \pm среднееквадратичное отклонение, при законе распределения, отличном от нормального, – как медиана (Me (25; 75 процентиля)).

Для сравнения средних двух выборок, подчиняющихся закону нормального распределения, использовали критерий Стьюдента. Для распределения, отличного от нормального, сравнение двух групп по количественным признакам проводили с помощью критерия Манна–Уитни. Сравнение относительных величин осуществляли с использованием критерия χ^2 . Во всех случаях проверки гипотез различия считали статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Исходно существенных различий по антигипертензивной терапии (табл. 1) и уровню среднесуточного, офисного и домашнего АД (табл. 2) между пациентами групп не было.

Т а б л и ц а 1. Проведение антигипертензивной терапии пациентов на момент их включения в исследование

Препараты	1-я группа (n = 24)	2-я группа (n = 30)	Всего	Уровень значимости
Тиазидные диуретики	16 (67 %)	16 (53 %)	32 (60 %)	$\chi^2 = 0,51; p = 0,47$
Тиазидоподобные диуретики	7 (29 %)	13 (44 %)	20 (37 %)	$\chi^2 = 0,62; p = 0,43$
Петлевые диуретики	1 (4 %)	1 (3 %)	2 (3 %)	$\chi^2 = 0,32; p = 0,53$
Ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента	17 (71 %)	23 (77 %)	40 (74 %)	$\chi^2 = 0,03; p = 0,86$
Блокаторы кальциевых каналов	21 (88 %)	29 (97 %)	50 (93 %)	$\chi^2 = 0,57; p = 0,45$
Антагонисты рецепторов к ангиотензину II	7 (29 %)	7 (23 %)	14 (26 %)	$\chi^2 = 0,03; p = 0,86$
β -адреноблокаторы	3 (12 %)	1 (3 %)	4 (7 %)	$\chi^2 = 0,57; p = 0,45$

Однако при анализе клинической характеристики были выявлены некоторые различия (табл. 2): пациенты 2-й группы имели более длительный анамнез АГ по сравнению с лицами 1-й. Кроме того, среди этих пациентов чаще встречался СД второго типа и ИБС (стенокардия напряжения). Средний ИМТ в 1-й группе составил $23,11 \pm 1,6 \text{ кг/м}^2$, во 2-й – $31,55 \pm 4,4 \text{ кг/м}^2$.

Т а б л и ц а 2. Исходная клиническая характеристика пациентов обеих групп

Показатель	1 группа (n = 24)	2 группа (n = 30)	Уровень значимости
Возраст, лет	$54,3 \pm 7,1$	$55,7 \pm 5,9$	$p > 0,05$
Пол (м/ж), чел.	11/13	10/20	$\chi^2 = 0,43; p = 0,45$
Длительность АГ, лет	$6,6 \pm 1,8$	$8,1 \pm 1,4$	$p = 0,049$
Среднесуточное САД, мм рт. ст.	$141,2 \pm 3,6$	$141,2 \pm 3,9$	$p > 0,05$
Среднесуточное ДАД, мм рт. ст.	$84,7 \pm 2,4$	$84,2 \pm 1,8$	$p > 0,05$
Среднее офисное САД, мм рт. ст.	$152,6 \pm 5,2$	$153,2 \pm 4,1$	$p > 0,05$
Среднее офисное ДАД, мм рт. ст.	$94,4 \pm 4,1$	$95,1 \pm 3,3$	$p > 0,05$
Среднее домашнее САД, мм рт. ст.	$155 \pm 3,2$	$153 \pm 4,0$	$p > 0,05$
Среднее домашнее ДАД, мм рт. ст.	$89,5 \pm 3,4$	$90,1 \pm 3,2$	$p > 0,05$
Стенокардия напряжения:			
ФК 2	5 (21 %)	13 (43 %)	$\chi^2 = 2,11; p = 0,14$
ФК 3	3 (12 %)	7 (23 %)	$\chi^2 = 0,44; p = 0,5$
Всего	8 (33 %)	20 (66 %)	$\chi^2 = 4,67; p = 0,03$
Инфаркт миокарда	3 (13 %)	12 (40 %)	$\chi^2 = 3,75; p = 0,05$
СД второго типа	7 (26 %)	20 (66 %)	$\chi^2 = 4,25; p = 0,03$
Курение	8 (33 %)	9 (30 %)	$\chi^2 = 0,00; p = 0,97$

Через 6 мес. лечения в обеих группах было достигнуто достоверное ($p < 0,05$) снижение среднесуточного САД (рис. 1) и ДАД (рис. 2) по сравнению с исходным уровнем, более выраженное ($p = 0,02$) во 2-й группе (в среднем на $11,7 \pm 0,5/5,8 \pm 1,4$ мм рт. ст.) по сравнению с 1-й (в среднем на $8,9 \pm 0,7/3,9 \pm 1,5$ мм рт. ст.).

Целевые цифры среднесуточного и офисного АД были достигнуты у 12 (50 %) пациентов 1-й группы и у 24 (80 %) – 2-й ($\chi^2 = 4,13; p = 0,04$).

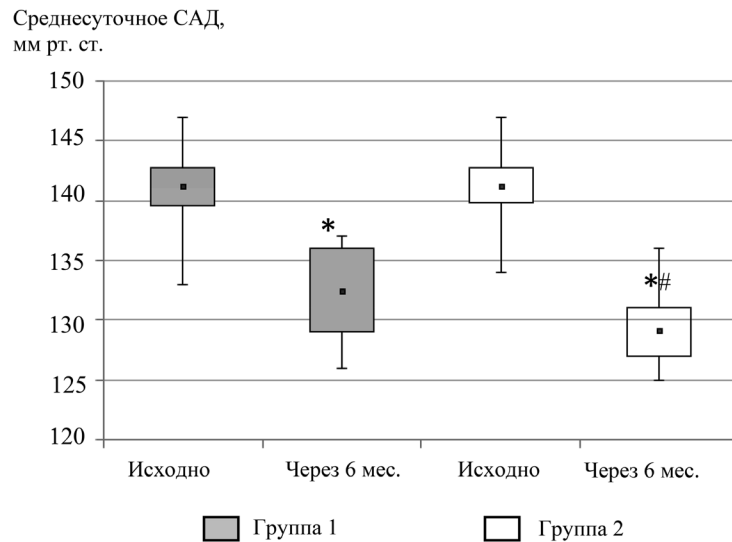


Рис. 1. Изменение среднесуточного систолического АД у пациентов обеих групп за время наблюдения. Достоверность различий: * – по сравнению с исходными данными ($p < 0,05$); # – по сравнению с группой 1 ($p = 0,02$)

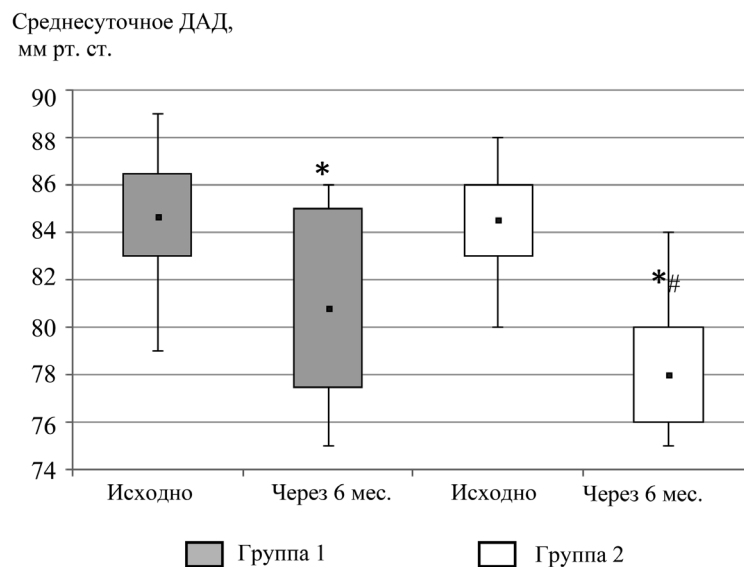


Рис. 2. Изменение среднесуточного диастолического АД у пациентов обеих групп за время наблюдения. Достоверность различий ($p = 0,05$): * – по сравнению с исходными данными; # – по сравнению с группой 1

Средние дозы спиронолактона, принимаемого пациентами обеих групп, за весь период наблюдения существенно не отличались ($p > 0,05$) и составили $32,1 \pm 9,2$ мг для 1-й группы и $30,9 \pm 11,1$ мг для 2-й. На 8-й неделе терапии было достигнуто максимальное снижение офисного АД в обеих группах, после чего дальнейшего его уменьшения не отмечалось (рис. 3).

Анализ побочных эффектов показал, что у 5 пациентов, принимавших спиронолактон, наблюдалась гиперкалиемия. В двух случаях данный побочный эффект потребовал снижения дозы препарата вдвое ($K > 5,0$ ммоль/л), в трех – его полной отмены ($K > 5,5$ ммоль/л). Необходимость снижения дозы препарата отмечалась еще у 6 пациентов, что в 5 случаях было обусловлено субъективной непереносимостью достигнутых цифр АД, а в одном – ортостатической гипотензией. Случаев повышения уровня креатинина и гинекомастии не было.

Результаты нашего исследования показали, что антагонисты МКР могут использоваться с целью снижения АД у пациентов с резистентной АГ, однако их применение более эффективно у лиц с избыточной массой тела и ожирением.

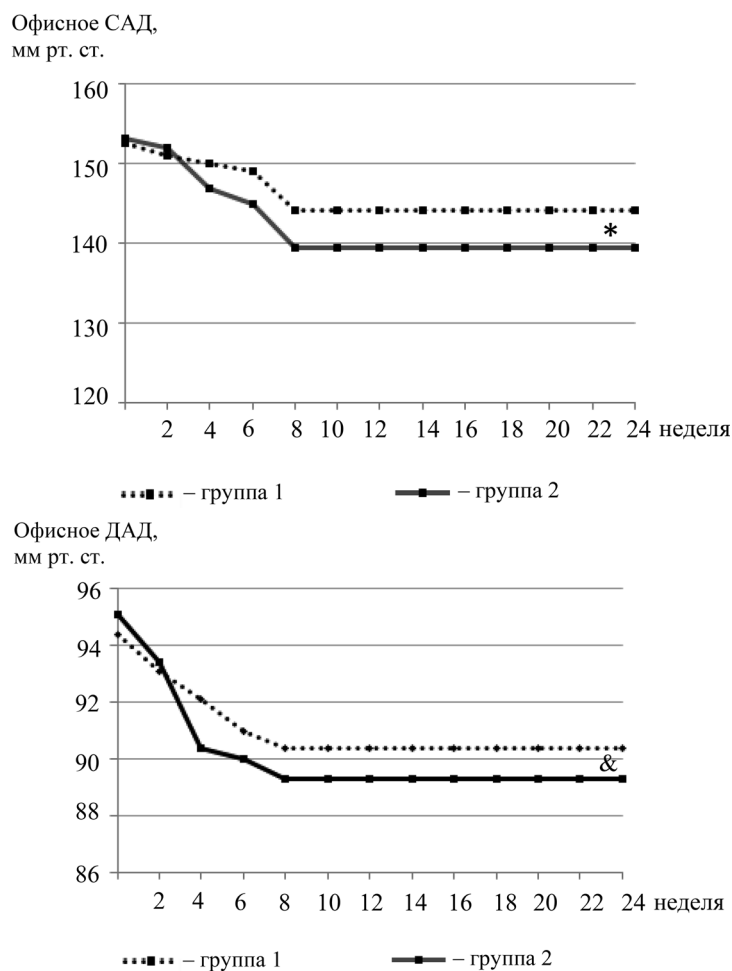


Рис. 3. Динамика офисного АД у пациентов обеих групп за время наблюдения

Полученные результаты не противоречат данным литературы. Так, в работе Н. Suzuki и соавт. [9] у лиц с метаболическим синдромом снижение офисного САД на фоне лечения антагонистами МКР (с $144/84 \pm 13/12$ до $129/76 \pm 15/13$ мм рт. ст.) было более выраженным ($p < 0,05$), чем у пациентов без него (с $147/85 \pm 12/14$ до $133/78 \pm 13/11$ мм рт. ст.). А. S. Vomback и соавт. [10] сообщают, что добавление спиронолактона в дозе 12,5 мг/сут к ингибитору АПФ или антагонисту рецепторов ангиотензина II у 21 пациента с ожирением (средний ИМТ составил $32,4 \text{ кг/м}^2$) приводило к существенному снижению среднего офисного АД, среднесуточного АД и среднего ночного АД. Подобные результаты были получены еще в одном исследовании [11], где монотерапия спиронолактоном в дозе 25–50 мг/сут у 29 пациентов с избыточной массой тела привела к снижению офисного САД и ДАД с $143,5 \pm 15,17$ до $133,2 \pm 17,34$ и с $85,2 \pm 11,10$ до $79,3 \pm 11,78$ мм рт. ст. соответственно ($p = 0,026$).

На сегодняшний день причины возникновения резистентной АГ до конца не ясны. Анализируя данные литературы, можно предположить, что существенную роль в развитии АГ играют патогенные эффекты альдостерона, обусловленные гиперактивацией ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), ускользанием секреции этого гормона от эффектов ингибиторов АПФ или антагонистов рецепторов ангиотензина II, повышенной экспрессией МКР на поверхности клеток гладких мышц сосудов, вторичным гиперальдостеронизмом и активацией МКР кортизоном [6, 12]. Все перечисленные выше процессы приводят к реализации негативных эффектов альдостерона и, как следствие, к задержке натрия и воды в организме, повреждению клеток эндотелия, миоцитов стенок сосудов, стимуляции периваскулярного воспаления, гипертрофии стенок сосудов и чрезмерному синтезу коллагена. Это сопровождается

увеличением жесткости сосудов, их ремоделированием и в конечном итоге влечет за собой возникновение или прогрессирование АГ [6]. Таким образом, использование антагонистов МКР, продемонстрировавших свою эффективность у пациентов обеих групп, позволило остановить цепь патологических процессов, инициированных избытком альдостерона, и снизить АД.

Не совсем понятна и причина большей эффективности спиронолактона в снижении АД у пациентов 2-й группы. С нашей точки зрения, это можно аргументировать вторичной гиперальдостеронемией, сопровождающей лишней вес. Косвенные доказательства подобной взаимосвязи прослеживаются в исследованиях по снижению избыточной массы тела, где уменьшение веса влечет за собой снижение концентрации альдостерона в крови и снижение АД [13, 14]. С открытием тканевой РААС было выявлено, что жировая ткань действительно является важным источником синтеза альдостерона. Повышение его локальной (вследствие гиперактивации РААС) и системной (вследствие стимуляции надпочечников адипокинами, окисленными свободными жирными кислотами и др.) концентрации у лиц с избыточным весом приводит к активации патогенных эффектов этого гормона и к запуску всех вышеупомянутых механизмов формирования АГ [6, 15–17]. Активация большого количества МКР, находящихся на поверхности адипоцитов, еще больше стимулирует адипогенез и лишь усиливает синтез альдостерона жировой тканью, замыкая тем самым порочный круг.

Таким образом, более выраженное гипотензивное действие спиронолактона у пациентов с избытком жировой ткани, по нашему мнению, может объясняться более полной блокадой эффекторов РААС и прерыванием бесконечной цепи взаимодействий альдостерона и адипоцитов. Это, по-видимому, позволяет предотвратить или замедлить прогрессирование резистентной АГ, довольно часто сопровождающей ожирение.

Заключение. Добавление антагонистов МКР к комплексному лечению пациентов с резистентной АГ приводит к снижению АД, особенно у лиц с избыточной массой тела и ожирением.

Список использованной литературы

1. Сіренко, Ю. М. Виконання Програми профілактики і лікування артеріальної гіпертензії в Україні (1999–2007 роки) / Ю. М. Сіренко // Артеріальна гіпертензія. – 2008. – № 2 (2). – С. 30–35.
2. Resistant hypertension: diagnosis, evaluation and treatment – a scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Pressure Research / D. A. Calhoun [et al.] // Hypertension. – 2008. – Vol. 51. – P. 1403–1419.
3. Body mass index and the prevalence of hypertension and dyslipidemia / C. D. Brown [et al.] // *Obes. Res.* – 2000. – Vol. 8 (9). – P. 605–619.
4. Krug, A. W. Aldosterone and metabolic syndrome: is increased aldosterone in metabolic syndrome patients an additional risk factor? / A. W. Krug, M. Ehrhart-Bornstein // *Hypertension*. – 2008. – Vol. 51 (5). – P. 1252–1258.
5. Первичный альдостеронизм (синдром Конна): основные сведения и собственное наблюдение / Н. Т. Ватутин [и др.] // *Укр. кардиол. журн.* – 2013. – № 4. – С. 61–66.
6. Роль гиперальдостеронизма и перспективы применения антагонистов альдостерона при резистентной артериальной гипертензии / Н. Т. Ватутин [и др.] // *Журн. нац. акад. мед. наук.* – 2014. – Т. 20, № 1. – С. 43–52.
7. Serum aldosterone and the incidence of hypertension in nonhypertensive persons / R. S. Vasan [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 351. – P. 33–41.
8. Obesity: preventing and managing the global epidemic Report of a WHO Consultation (WHO Technical Report Series 894) // *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.* – 2000. – Vol. 894. – 253 p.
9. Eplerenone, an aldosterone blocker, is more effective in reducing blood pressure in patients with, than without, metabolic syndrome / H. Suzuki [et al.] // *Ther. Adv. Cardiovasc. Dis.* – 2012. – Vol. 6 (4). – P. 141–147.
10. Low-dose spironolactone, added to long-term ACE inhibitor therapy, reduces blood pressure and urinary albumin excretion in obese patients with hypertensive target organ damage / A. S. Bomback [et al.] // *Clin. Nephrol.* – 2009. – Vol. 72 (6). – P. 449–456.
11. Spironolactone reduces blood pressure and albuminuria of obese hypertensive patients with metabolic syndrome / D. G. Ezequiel [et al.] // *J. Bras. Nefrol.* – 2013. – Vol. 35 (1). – P. 69–72.
12. Blockade of mineralocorticoid receptor reverses adipocyte dysfunction and insulin resistance in obese mice / A. Hirata [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2009. – Vol. 84. – P. 164–172.

13. *Calhoun, D. A.* The role of aldosteronism in causing obesity-related cardiovascular risk / D. A. Calhoun, K. Sharma // *Cardiol. Clin.* – 2010. – Vol. 28 (3). – P. 517–527.
14. Association of adrenal steroids with hypertension and the metabolic syndrome in blacks / S. Kidambi [et al.] // *Hypertension.* – 2007. – Vol. 49. – P. 704–711.
15. Spironolactone impairs endothelial function and heart rate variability in patients with type 2 diabetes / J. I. Davies [et al.] // *Diabetologia.* – 2004. – Vol. 47 (10). – P. 1687–1694.
16. A novel adipokine CTRP1 stimulates aldosterone production / J. H. Jeon [et al.] // *FASEB J.* – 2008. – Vol. 22 (5). – P. 1502–1511.
17. *Paula, R. B.* Aldosterone antagonism attenuates obesity-induced hypertension and glomerular hyperfiltration / R. B. Paula, A. A. Silva, J. E. Hall // *Hypertension.* – 2004. – Vol. 43 (1). – P. 41–47.

Поступила в редакцию 21.10.2015

УДК 616.711.6-089.22

К. А. КРИВОРОТ

ТРАНСПЕДИКУЛЯРНАЯ ФИКСАЦИЯ НЕСТАБИЛЬНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПОЯСНИЧНОГО ОТДЕЛА ПОЗВОНОЧНИКА

*Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии, Минск, Беларусь,
e-mail: niito@tut.by*

В статье изложен новый метод транспедикулярной фиксации нестабильных повреждений поясничного отдела позвоночника. Представлены результаты применения нового метода при лечении 146 пациентов и результаты применения классического метода транспедикулярной фиксации при лечении 200 пациентов на базе двух нейрохирургических отделений РНПЦ травматологии и ортопедии (г. Минск, Республика Беларусь).

Ключевые слова: травма поясничного отдела позвоночника, нестабильные повреждения, хирургическое лечение, транспедикулярная фиксация, цифровые технологии.

К. А. KRIVOROT

TRANSPEDICULAR FIXATION OF UNSTABLE INJURIES OF LUMBAR SPINE

Republican Scientific and Practical Centre for Traumatology and Orthopedics, Minsk, Belarus, e-mail: niito@tut.by

The article presents a new method of transpedicular fixation of unstable injuries of the lumbar spine. Presented are the results of treatment of 146 patients using a new method of transpedicular fixation and the results of the classical method of transpedicular fixation in the treatment of 200 patients operated at two neurosurgical departments of the Republican Scientific and Practical Centre for Traumatology and Orthopedics (in Minsk, Belarus).

Keywords: injury of lumbar spine, unstable injuries, surgical treatment, transpedicular fixation, digital technologies.

Введение. За последние десятилетия в связи с бурным ростом урбанизации и увеличением числа транспортных средств количество и тяжесть травм позвоночника значительно возросли. Большинство пострадавших молодого, трудоспособного возраста, что является одной из актуальных медико-социальных проблем современной медицины [1].

В настоящее время разработаны и внедрены различные методы как консервативного, так и хирургического лечения пострадавших. Тактика лечения выбирается в зависимости от многих факторов, в том числе от наличия сопутствующей патологии и тяжести состояния потерпевшего, а также от характера самого перелома. Параллельно с совершенствованием металлоконструкций разрабатываются и методики по их установке. Успех лечения во многом зависит не только от правильного подбора имплантатов, но и от качества установки транспедикулярных винтов. Нерешенным остается вопрос о протяженности металлоконструкции. Наравне с классической 4-винтовой бисегментарной методикой транспедикулярной фиксации позвоночника существуют и другие варианты: моносегментарная, бисегментарная многоуровневая, полисегментарная многоуровневая и бисегментарная фиксация поясничного отдела позвоночника с введением дополнительного винта в сломанный позвонок. Публикации отечественных и зарубежных авторов основаны на небольшом клиническом материале, что затрудняет выбор наиболее оптимального способа фиксации нестабильных повреждений поясничного отдела позвоночника [2–6]. В последние годы, по литературным данным, отмечены единичные случаи применения бисегментарной фиксации поясничного отдела позвоночника с дополнительной фиксацией тела сломанного позвонка

[3, 4]. Данная технология позволяет выполнить интраоперационную репозицию и коррекцию для устранения травматической деформации и восстановить анатомические взаимоотношения в поврежденном сегменте позвоночника, а дополнительно введенный винт дает возможность увеличить прочность установленной металлоконструкции. С 2005 г. в РНПЦ травматологии и ортопедии (г. Минск) наряду с классической бисегментарной транспедикулярной фиксацией [5] стала активно внедряться новая технология заднего спондилодеза путем бисегментарной фиксации поврежденного участка поясничного отдела позвоночника с введением дополнительного винта в сломанный позвонок слева [7].

Цель данного исследования – разработать новый оптимальный вариант внутренней дорсальной фиксации нестабильных повреждений поясничного отдела позвоночника и сравнить результаты его применения с результатами традиционно используемой классической 4-винтовой бисегментарной фиксацией.

Объекты и методы исследования. Проведен анализ лечения 346 пациентов с повреждением поясничного отдела позвоночника, оперированных в РНПЦ травматологии и ортопедии (г. Минск) с 2005 по 2014 г. По видам повреждений все пострадавшие имели оскольчатые переломы и переломо-вывихи по классификации F. Denis [8]; согласно классификации F. Magerl [9] у пациентов преобладали переломы типа А3. Большинство пациентов были лица мужского пола – 233 пациента (67,3 %), женского – 113 (32,7 %) пациенток. Возраст пациентов составил от 16 до 72 лет (средний возраст – 37 лет). В состоянии алкогольного опьянения травму получили 68 (19,7 %) пациентов. Обстоятельства получения травмы: падение с высоты – 295 (85,3 %) пострадавших, дорожно-транспортное происшествие – 38 (11 %), воздействие внешних сил – 8 (2,3 %), обстоятельства травмы не установлены – 5 (1,4 %) человек. Поврежден позвонок L1 у 176 (50,9 %) пострадавших, L2 – у 77 (22,3 %), L3 – у 55 (15,9 %), L4 – у 31 (9 %), L5 – у 7 (1,9 %). У 113 (32,7 %) человек имелись сочетанные и множественные повреждения. Неврологические осложнения были диагностированы у 127 (36,7 %) пациентов, из них: нижняя параплегия – у 12 (9,5 %), нижний грубый парапарез – у 24 (18,9 %), нижний умеренный парапарез – у 20 (15,7 %), нижний легкий парапарез и/или нарушение функции тазовых органов – у 71 (55,9 %). Применялись методы исследования: клинический, лучевой диагностики (спондилография, рентгеновская компьютерная томография (РКТ), магнитно-резонансная томография (МРТ)) и статистический. При поступлении пострадавшего оценивали тяжесть состояния, уточняли обстоятельства получения травмы, выслушивали жалобы, производили осмотр органов и систем пациента. При наличии неврологических расстройств оценивали степень их тяжести. Неврологический статус оценивался с применением шкалы ASIA [10]. Спондилографию выполняли в двух стандартных проекциях (прямой и боковой) с центрацией рентгеновского луча на уровне предполагаемого повреждения. Для уточнения характера костных повреждений и степени травматического стеноза позвоночного канала применяли РКТ, а степень повреждений дисковых и интраканальных структур оценивали с помощью МРТ. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью редактора Microsoft Office Excel 2003 из пакета офисных программ компании Microsoft – MS Office (США) и программы STATISTICA v.13 (США).

Всего прооперировано 346 пациентов, выполнено 498 операций. Проведены следующие виды операций:

1. Задняя фиксация с применением транспедикулярного фиксатора (ТПФ) – 70 операций; применялась при отсутствии повреждений спинного мозга и его корешков, а реконструкция позвоночного канала выполнялась путем не прямой декомпрессии дурального мешка за счет лигаментотаксиса (натяжение неповрежденной задней продольной связки).

2. Задняя декомпрессия и ТПФ – 124 операции; декомпрессия интраканальных структур выполнялась путем геми-, ламинэктомии или заднебоковой декомпрессии.

3. Второй этап хирургического лечения – передне-боковая декомпрессия спинного мозга и его корешков выполнена у 124 пациентов. Таким образом, двухэтапное хирургическое лечение производилось в 35,8 % случаев.

Ход выполнения операции. Операцию выполняют под общей анестезией. Пациента укладывают на живот. Разрез производят на два сегмента выше и ниже сломанного позвонка. После скелетирования остистых отростков и дуг выделяют заднюю поверхность позвоночника до осно-

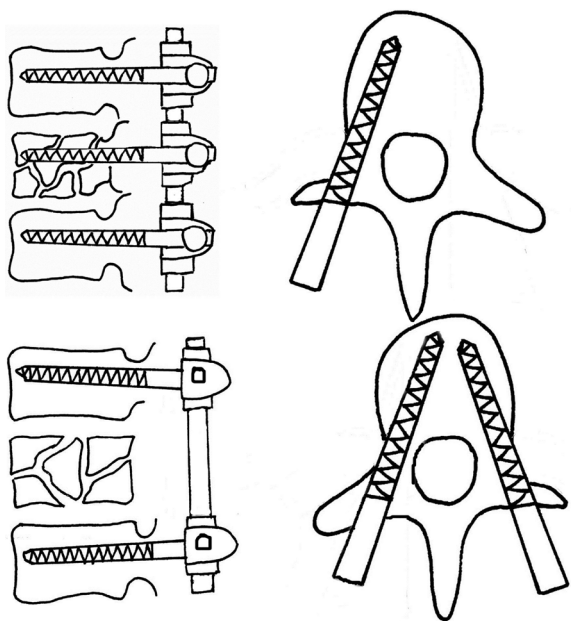


Рис. 1. Схема установки транспедикулярных винтов

вания поперечных отростков. Определяют точки введения винтов. Затем формируют канал, проходящий через корень дуги в тело позвонка, для последующего введения винта. Через корни дуг в тела вышележащего и нижележащего (относительно сломанного) позвонков устанавливают по два транспедикулярных винта, а в сломанный позвонок – транспедикулярный винт слева согласно схеме (рис. 1).

Все манипуляции производят с применением электронно-оптического преобразователя. Затем, при необходимости, выполняют декомпрессию спинного мозга и его корешков. Объем декомпрессии зависит от характера повреждения и может состоять в интер-, геми-, ламинэктомии или расширенной ламинэктомии с удалением дуг, суставных отростков, отломков тела позвонка и межпозвонкового диска. При наличии сомнений в объеме декомпрессии можно применять метод миелографии (введение контраста в субарахноидальное пространство, как правило «Омнипак»

в объеме 15 мл) под контролем электронно-оптического преобразователя с целью визуализации стеноза позвоночного канала. Операцию заканчивают монтажом ТПФ: винты соединяют стержнями. При необходимости выполняют репозицию и коррекцию деформации в поврежденном сегменте позвоночника. На стержни устанавливают межстержневой стабилизатор. Вдоль металлоконструкции с целью спондилодеза укладывают костные аутотрансплантаты, полученные в результате удаления элементов заднего опорного комплекса. Проведенный слева в тело сломанного позвонка винт не является препятствием для выполнения второго этапа хирургического лечения (передней декомпрессии спинного мозга и его корешков), выполняемого с применением правостороннего передне-бокового доступа. Операцию завершают установкой дренажа и послойным ушиванием раны.

Таблица 1. Среднее время операции и средняя кровопотеря при транспедикулярной стабилизации позвоночника с применением 5- и 4-винтового транспедикулярного фиксатора у пациентов с повреждением поясничного отдела позвоночника

Группа	Время операции, мин		Кровопотеря, мл	
	Фиксация	Фиксация + декомпрессия	Фиксация	Фиксация + декомпрессия
ТПФ-5 (n = 146)	110,13 ± 12,38	140,7 ± 11,94	188,25 ± 39,46	377,83 ± 82,29
ТПФ-4 (n = 178)	109,54 ± 10,65	142,9 ± 9,97	242,59 ± 63,51	326,9 ± 50,65

Результаты и их обсуждение. Проанализированы результаты хирургического лечения у 105 (71,9 %) пациентов в срок от 1 года до 10 лет после травмы (средний срок наблюдения составил $39,96 \pm 7,74$ мес.), оперированных по новой 5-винтовой методике. Хороший клинико-функциональный результат был достигнут у 67 (63,8 %) пациентов, удовлетворительный – у 38 (36,2 %). Положительная динамика в неврологическом статусе отмечена у 19 (18,1 %) пациентов: 11 человек полностью восстановились до нормы, 7 – до легкого парапареза, 1 – до умеренного парапареза. Ухудшений в неврологическом статусе не замечено. Неврологические осложнения остались у 17 (16,2 %) пациентов, из них параплегия – у 1 человека, грубый парапарез – у 4, умеренный парапарез – у 2, легкий парапарез и/или нарушение функции тазовых органов – у 10. В анкетировании приняло участие 48 (32,9 %) человек. По мнению пациентов, у 29 (60,4 %) из них результат операции был отличным, у 17 (35,4 %) – хорошим, у 2 (4,2 %) – удовлетворительным. Приступили к работе 33 (68,75 %) пациента, 15 (31,25 %) человек по тем или иным причинам не работают.

Группу инвалидности имеют 4 (8,6 %) пациентов: 2 – II, 2 – III. Из 146 оперированных пациентов у 10 (6,8 %) произведено удаление фиксатора: по поводу демонтажа металлоконструкции – у 4, по поводу нагноения – у 3, у 3 пациентов фиксатор удаляли через 1 год и позже после формирования костного блока. Из осложнений в раннем послеоперационном периоде у 3 (2,1 %) человек было нагноение послеоперационной раны, по поводу чего производили удаление фиксатора, у 5 (3,4 %) пациентов выполняли реоперацию: в двух было из-за демонтажа фиксатора, в одном случае перепроводили винт и в двух случаях устраняли ликворею. В отдаленном периоде у 8 (5,5 %) пациентов выявлен самопроизвольный демонтаж фиксатора или перелом элементов металлоконструкции. Смерть 5 пациентов через год и более после операции не была связана с оперативным вмешательством.

Для сравнения были проанализированы результаты хирургического лечения 133 (66,5 %) пациентов в срок от 1 года до 8 лет после травмы (средний срок наблюдения составил $43,45 \pm 5,15$ мес.), оперированных по классической 4-винтовой методике. Хороший клинично-функциональный результат был достигнут у 72 (54,1%) пациентов, удовлетворительный – у 61 (45,9%). Положительная динамика в неврологическом статусе отмечена у 31 (23,3 %) пациента: 18 полностью восстановились до нормы, 6 – до легкого парапареза, 7 – до умеренного парапареза. Ухудшений в неврологическом статусе не замечено. Неврологические осложнения остались без динамики у 18 (13,5 %) пациентов, из них параплегия – у 2, грубый парапарез – у 2, умеренный парапарез – у 2, легкий парапарез и/или нарушение функции тазовых органов – у 12. В анкетировании принял участие 71 (35,5 %) пациент. По мнению пациентов, у 42 (59,1 %) из них результат операции был отличным, у 7 (9,9 %) – хорошим, у 22 (31 %) – удовлетворительным. К работе приступили 36 (50,7 %) пациентов. По тем или иным причинам не работают 35 (49,3 %) пациентов. Группу инвалидности имеют 18 (25,4 %) человек: 3 – I группу, 9 – II, 6 – III. Из 200 оперированных у 17 (8,5 %) выполнено удаление фиксатора: по поводу демонтажа металлоконструкции – у 4 пациентов, по поводу перелома винтов – у 3, у 10 человек фиксатор удалялся через 1 год и позже после формирования костного блока. У 11 (5,5 %) пациентов выполнена реоперация: в 6 случаях из-за некорректно установленной металлоконструкции перепроводили винт, в 3 случаях из-за демонтажа фиксатора производили его перемонтаж, в 3 случаях из-за гематомы послеоперационной раны – ревизию послеоперационной раны, устранение гематомы. В отдаленном периоде у 16 (8 %) пациентов выявлен самопроизвольный демонтаж фиксатора или перелом элементов металлоконструкции. Смерть 5 пациентов через год и более после операции не была связана с оперативным вмешательством.

Рентгенологические параметры оценивали до операции, в раннем послеоперационном периоде и в отдаленном периоде (не менее чем через 1 год после операции) у 71 (48,6 %) пациента, оперированного по новой технологии, и у 86 (43 %) человек, оперированных по классической методике. Проанализированы основные критерии лучевой диагностики повреждений позвоночника (степень компрессии тела позвонка, угол травматической кифотической деформации по Cobb и степень смещения тела позвонка) [11–13]. Расчет критериев производился с применением разработанной в нашем Центре и не имеющей аналогов компьютерной программы V-calc [14, 15].

Результаты применения транспедикулярной стабилизации позвоночника представлены в табл. 2 (одноэтапное лечение) и табл. 3 (двухэтапное лечение), из которых видно, что достигнутая интраоперационная коррекция в случае применения 5-винтового ТПФ лучше, чем при использовании стандартной классической 4-винтовой методики фиксации. Частичная потеря коррекции меньше при применении 5-винтового фиксатора, находится в допустимых границах [7] и не влияет на окончательные результаты хирургического лечения как в первом, так и во втором случае.

Т а б л и ц а 2. Результаты применения транспедикулярной стабилизации позвоночника у 89 пациентов с травматическим повреждением поясничного отдела позвоночника при одноэтапном хирургическом лечении

Группа	Степень компрессии тела позвонка, %		Угол кифоза, град.		Смещение тела позвонка, %	
	Коррекция	Потеря коррекции	Коррекция	Потеря коррекции	Коррекция	Потеря коррекции
ТПФ-5 (n = 47)	14,45 ± 5,64	7,15 ± 3,8	9,51 ± 3,49	8,66 ± 2,5	5,62 ± 2,47	1,11 ± 1,88
ТПФ-4 (n = 42)	7,83 ± 6,24	9,3 ± 6,57	5,55 ± 3,38	10,5 ± 3,77	3,78 ± 5,03	3,19 ± 6,36

Таблица 3. Результаты применения транспедикулярной стабилизации позвоночника у 68 пациентов с травматическим повреждением поясничного отдела позвоночника при двухэтапном хирургическом лечении

Группа	Степень компрессии тела позвонка, %			Угол кифоза, град.			Смещение тела позвонка, %		
	Коррекция-1	Коррекция-2	Потеря коррекции	Коррекция-1	Коррекция-2	Потеря коррекции	Коррекция-1	Коррекция-2	Потеря коррекции
ТПФ-5 (n = 24)	13,25 ± 6,85	0,25 ± 4,23	7,04 ± 6,35	8,54 ± 2,63	1,33 ± 2,41	8,33 ± 3,78	7,88 ± 4,83	5,88 ± 4,03	1,92 ± 1,81
ТПФ-4 (n = 44)	6,14 ± 3,9	7,38 ± 4,12	8 ± 5,83	7,02 ± 3,39	0,34 ± 2,08	8,5 ± 3,26	2,95 ± 3,77	7,89 ± 2,6	1,95 ± 2,37

Клинический пример. Пациент К., 33 года (и. б. №7996/1195). Травма получена в дорожно-транспортном происшествии 24.12.2009 г. Первая медицинская помощь была оказана в центральной районной больнице по месту жительства, затем в течение суток после травмы он был переведен в РНПЦ травматологии и ортопедии с диагнозом: закрытый оскольчатый перелом L1 позвонка, нижняя параплегия, нарушение функции тазовых органов (группа А по шкале ASIA).

После дообследования (рис. 2) по экстренным показаниям в тот же день выполнен первый этап хирургического лечения: задняя декомпрессия спинного мозга на уровне L1 позвонка, задняя стабилизация Th12-L1-L2 транспедикулярным фиксатором, задний спондилодез ауто-трансплантатами. Во время операции в соответствии с предложенным способом через корни дуг в тела вышележащего и нижележащего (относительно сломанного) позвонков установлены по два транспедикулярных винта, а в сломанный позвонок – транспедикулярный винт слева. Выполнена репозиция и коррекция деформации в поврежденном сегменте позвоночника, смонтирована металлоконструкция, вдоль которой уложены костные ауто-трансплантаты. После непродолжительного восстановительного периода, учитывая наличие переднего стеноза позвоночного канала, 13.01.2010 г. пациенту в плановом порядке выполнен второй этап хирургического лечения: передняя декомпрессия спинного мозга на уровне L1 позвонка, корпородез Th12-L2 ауто-трансплантатом (получен из крыла подвздошной кости пациента). Проведенный слева в тело сломанного позвонка винт не послужил препятствием для выполнения этой операции, выполнявшейся из правостороннего передне-бокового доступа.

Восстановительный период без осложнений. Неврологический статус без положительной динамики (группа А по шкале ASIA). На спондилограммах – корректное стояние ауто-трансплантата и элементов металлоконструкции (рис. 3).

27.01.2010 г. пациент переведен для дальнейшего лечения в Республиканскую клиническую больницу медицинской реабилитации «Аксаковщина» для проведения курса реабилитационно-восстановительного лечения.

Осмотр через 2 года после операции показал следующее: пациент передвигается с опорой (трость); в неврологическом статусе положительная динамика (группа D по шкале ASIA): легкий



Рис. 2. Спондилограммы до операции

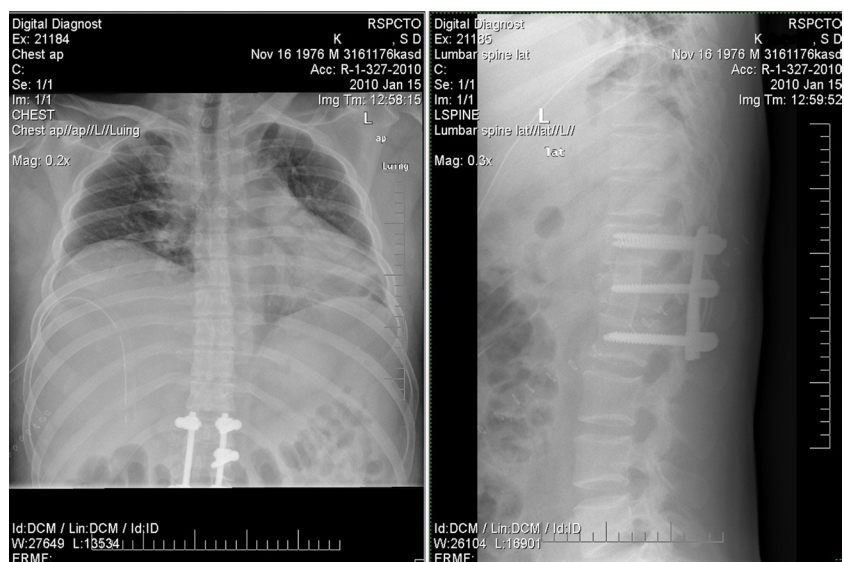


Рис. 3. Спондилограммы после второго этапа хирургического лечения



Рис. 4. Спондилограммы через 2 года после операции

нижний парапарез, функция тазовых органов в норме; отсутствие болей в спине и ногах как в покое, так и при движении. Работает, имеет III группу инвалидности, оценивает результат операции на «отлично». По данным спондилографии от 04.05.2012 г., перелом в стадии завершённой консолидации, элементы металлоконструкции стоят корректно, потеря коррекции минимальна (рис. 4).

Заключение. Разработана новая технология внутренней дорсальной бисегментарной транспедикулярной фиксации нестабильного перелома поясничного отдела позвоночника. Дополнительная установка винта не удлиняет время операции, а интраоперационная кровопотеря увеличивается незначительно. Проведение в тело сломанного позвонка винта слева не является препятствием для выполнения второго этапа хирургического лечения, но в то же время позволяет выполнить непрямую транспедикулярную редукцию отломков тела сломанного позвонка, снизить риск демонтажа металлоконструкции за счет разгрузки поврежденного сегмента позвоночника, уменьшив тем самым вероятность осложнений и неблагоприятных исходов хирургического лечения. Это, в свою очередь, дает возможность ранней реабилитации и позволяет сократить расходы на стационарное лечение. Пациенты, оперированные по новой технологии, в большинстве случаев отмечают отличный результат операции, они лучше адаптированы к социальной жизни.

Список использованной литературы

1. *Осипов, Ю. В.* Мониторинг первичной инвалидности при травмах позвоночника и позвоночно-спинальной травме в Республике Беларусь / Ю. В. Осипов // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2012. – № 4. – С. 61–65.
2. Моноsegmentарный транспедикулярный остеосинтез при повреждениях грудного и поясничного отделов позвоночника / А. А. Афаунов [и др.] // Хирургия позвоночника. – 2010. – № 2. – С. 16–21.
3. Хирургическое лечение взрывных переломов тел позвонков грудного и поясничного отделов у детей / С. В. Виссарионов [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2006. – № 1 (39). – С. 10–15.
4. *Зарецков, В. В.* Хирургическое лечение повреждений и заболеваний позвоночника: практ. руководство для врачей / В. В. Зарецков, И. А. Норкин, В. Б. Арсенович. – Рыбинск: ОАО «Рыбинский Дом печати», 2007. – 112 с.
5. *Макаревич, С. В.* Внутренняя транспедикулярная фиксация грудного и поясничного отделов позвоночника при его повреждении: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.22 / С. В. Макаревич; БелНИИТО. – Минск, 2002. – 40 с.
6. Transpedicular screw fixation of thoracolumbar spine fractures / Saša Milenković [et al.] // Sci. J. of the Faculty of Medicine in Niš. – 2010. – N 27 (2). – P. 63–68.
7. Результаты хирургического лечения пациентов с повреждениями поясничного отдела позвоночника / С. В. Макаревич [и др.] // Мед. новости. – 2015. – № 7. – С. 64–67.
8. *Denis, F.* The three column spine and its significance in the classification of acute thoracolumbar spinal injuries / F. Denis // Spine. – 1983. – N 8. – P. 817–831.
9. A comprehensive classification of thoracic and lumbar injuries / F. Margel [et al.] // Eur. Spine J. – 1994. – Vol. 4, N 3. – P. 184–201.
10. American Spinal Injury Association. Standards for neurological and functional classification of spinal cord injury. – Chicago, IL: American Spinal Injury Association, 1992. – P. 1–14.
11. *Cobb, J. R.* Outline for the study of scoliosis // The American Academy of Orthopedic Surgeons Instructional Course Lectures / J. R. Cobb // Ann. Arbor. – 1948. – Vol. 5. – P. 261–275.
12. Radiographic measurement parameters in thoracolumbar fractures: a systematic review and consensus statement of the spine trauma study group / O. Keynan [et al.] // Spine. – 2006. – Vol. 31, N 5. – P. E156–E165.
13. *McBride, G. G.* Cotrel-Debousset / Rods in Surgical Stabilization of Spinal Fractures // Spine. – 1993. – Vol. 18, N 4. – P. 466–473.
14. *Криворот, К. А.* Цифровые технологии в спинальной хирургии / К. А. Криворот; под ред. А. В. Сикорского, О. К. Кулаги // Новые исследования молодых ученых 2015: сб. науч. работ. – 2015. – С. 83–88.
15. *Криворот, К. А.* Компьютерно-ориентированные методики в лечении пациентов с травмой поясничного отдела позвоночника / К. А. Криворот // Наука и инновации. – 2016. – № 2 (156). – С. 68–72.

Поступила в редакцию 21.03.2016

УДК 616.36-004-02:616.36-002.2-002.6-091

А. М. МАЙБОГИН¹, М. К. НЕДЗЬВЕДЬ², А. И. КУРОЧКИНА³

ФАКТОРНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗЫВАЕМОЙ ВИРУСОМ ГЕПАТИТА С

¹*Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия, e-mail: art24@rambler.ru*

²*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь*

³*Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения Федерального агентства в сфере здравоохранения и социального развития, Москва, Россия*

В статье представлены результаты факторного анализа данных морфологического исследования головного мозга при хронической инфекции, вызываемой вирусом гепатита С (HCV). Установлены три наиболее значимых морфогенетических фактора (энцефалитический, ангиопатический и воспалительно-дистрофический), которые влияют на развитие наблюдаемых изменений мозга. Полученные данные могут быть использованы для выбора перспективных направлений дальнейших морфогенетических исследований.

Ключевые слова: факторный анализ, корреляционная связь, вирус гепатита С, мозг, морфология.

A. M. MAYBOGIN¹, M. K. NEDZVEDZ², A. I. KUROCHKINA³

FACTOR ANALYSIS OF STRUCTURAL CHANGES OF THE BRAIN IN PATIENTS WITH CHRONIC HCV INFECTION

¹*Helmholtz Moscow Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russia, e-mail: art24@rambler.ru*

²*Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus*

³*Central Scientific Research Institute of Organization and Informatization of Health of the Federal Agency of Health and Social Development, Moscow, Russia*

The results of factorial analysis of the available data of morphological research of the brain in patients with chronic hepatitis C (HCV) infection are presented in this article. Three most appreciable morphogenetic factors (encephalitic, angiopathological and inflammatory-dystrophic), which influence the development of brain alterations observed during HCV-infection, were found. These findings can be used to select perspective directions of further morphogenetic studies.

Keywords: factor analysis, correlation, hepatitis C virus, brain, morphology.

Введение. Поражение центральной нервной системы при хронической HCV-инфекции является одним из ведущих внепеченочных проявлений, которое наблюдается у 50 % пациентов с данной патологией [1–4]. Активное изучение изменений головного мозга при хронической HCV-инфекции началось после обнаружения Radkowski и соавт. [5] репликации HCV в веществе мозга. Установлено, что вирус проникает в мозг, минуя гематоэнцефалический барьер в составе инфицированных моноцитов периферической крови, которые в дальнейшем трансформируются в клетки микроглии. Этот феномен получил в зарубежной литературе аллегорическое название «троянский конь» [3–8]. На сегодняшний день доказана связь между хронической HCV-инфекцией и наблюдаемой при этом болезнью дисфункцией мозга, основными клиническими проявлениями которой являются различные когнитивные расстройства, депрессия и синдром хронической усталости [1–4].

В то же время структурные изменения головного мозга при HCV-инфекции остаются малоизученными. В литературе на пролиферацию глии, периваскулярную круглоклеточную инфильтрацию, различные дегенеративные изменения нейронов и белого вещества указывается как на наиболее частые структурные изменения вещества мозга при данном заболевании. Причем эти

сведения весьма немногочисленны и противоречивы. Еще меньше известно о причинах, лежащих в основе развития наблюдаемых изменений [2, 4, 9].

В связи с этим представляется актуальным не только изучение структурных изменений головного мозга при хронической HCV-инфекции, но и установление характера взаимосвязи между ними, а также выявление морфогенетических факторов их развития. Для решения подобных задач в медицинских исследованиях в последнее время широко применяется метод факторного анализа, который позволяет не только устанавливать существующие между наблюдаемыми изменениями связи, но и, в отличие от большинства других статистических методов, определять причины возникновения наблюдаемых зависимостей [10, 11].

Цель работы – установление факторной структуры данных морфологического исследования изменений головного мозга при хронической HCV-инфекции.

Материалы и методы исследования. Исследовали секционный материал (40 наблюдений; мужчин – 29, женщин – 11, средний возраст $47,85 \pm 12,04$ года). Патологоанатомическое заключение – цирроз печени в исходе хронического вирусного гепатита С (ВГС). Во всех случаях диагноз ВГС был подтвержден прижизненными молекулярно-генетическими исследованиями, результаты которых отражены в историях болезней. В исследуемую группу вошли только те пациенты, у которых антигены HCV обнаружены в веществе мозга и в ткани печени. В исследование не включали пациентов с наличием антител к вирусу иммунодефицита человека, вирусам гепатитов А, В и D, а также с сопутствующей психической патологией, алкогольной зависимостью, системными аутоиммунными заболеваниями и заболеваниями эндокринной системы. Контрольную группу составили 20 наблюдений (мужчин – 17, женщин – 3, средний возраст $49,60 \pm 14,38$ года). Причинами смерти в контрольной группе явились острая коронарная недостаточность – 11 случаев; нарушения мозгового кровообращения – 8 случаев; автомобильная травма и механическая асфиксия – по 1 случаю соответственно. Исследование было проведено на базе ГУЗ «Гомельское областное клиническое патологоанатомическое бюро» и прокуратуры Государственной службы судебных экспертиз Управления по Гомельской области. Иммуногистохимические исследования выполнены в Московской городской онкологической больнице № 62.

Объектом исследования был головной мозг умерших в исходе хронической HCV-инфекции. Для гистологического исследования вырезали кусочки мягкой мозговой оболочки, коры и подкоркового белого вещества из лобных и височных долей больших полушарий, кусочки из базальных ядер, гиппокампа, мозжечка и ствола мозга, которые подвергали стандартной гистологической проводке с последующей заливкой в парафин. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 4–6 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону, на миелин по Клуверу и Баррера, крезилвиолетом по Нислю, методом Lendrum на фибрин и коллагеновые волокна и методом серебрения по Миягава–Александровской. Иммуногистохимическое исследование осуществляли полимерно-протеиново-пероксидазным методом по стандартной методике с использованием первичных антител к вирусному протеину NS3 (клон МММ33) и CD68 (клон KP1) на срезах толщиной 3–4 мкм [6–8].

Для оценки структурных изменений мозга были отобраны 16 наиболее типичных морфологических критериев (табл. 1), которые позволяли оценить не только выраженность этих изменений, но и степень их взаимовлияния [9, 12, 13]. Критерии оценивали в 10 случайных полях зрения при 200- и 400-кратном увеличении микроскопа с применением визуально-аналоговых морфометрических шкал [12–14]. Статистическую обработку проводили с помощью пакета программ прикладной статистики STATISTICA 6.0 корпорации STATSOFT.

Результаты и их обсуждение. Для установления факторной структуры морфологических критериев изменений головного мозга при хронической HCV-инфекции с помощью программы «Факторный анализ» (раздел «Многомерный разведочный анализ» пакета STATISTICA 6.0) проведен факторный анализ корреляционных связей между полученными значениями морфологических критериев (табл. 1). Для выделения факторов был выбран метод общностей. Количество факторов выявляли с помощью критерия Кайзер и критерия Кеттеля. Для того чтобы факторы были наиболее «интерпретабельными», применяли метод варимакс-вращения [10, 11]. Матрица факторных нагрузок после варимакс-вращения представлена в табл. 2.

Т а б л и ц а 1. Корреляционная матрица первичных морфологических данных

№ п/п	Переменная	Коэффициент корреляции															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	Экспрессия вирусного протеина NS3	1,00															
2	Экспрессия CD68	0,81	1,00														
3	Паренхиматозная воспалительная инфильтрация	0,66	0,76	1,00													
4	Степень поражения нейронов	0,45	0,62	0,83	1,00												
5	Выпадение нейронов	0,37	0,51	0,68	0,71	1,00											
6	Микроглиоз	0,76	0,81	0,82	0,86	0,82	1,00										
7	Демиелинизация	0,62	0,63	0,70	0,80	0,79	0,75	1,00									
8	Аксональная дегенерация	0,70	0,70	0,83	0,83	0,79	0,72	0,70	1,00								
9	Периваскулярная воспалительная инфильтрация	0,61	0,72	0,73	0,67	0,47	0,60	0,64	0,60	1,00							
10	Периваскулярный склероз	0,27	0,30	0,07	0,13	0,21	0,13	0,23	-0,15	0,49	1,00						
11	Периваскулярные кровоизлияния	0,39	0,42	0,23	0,37	0,37	0,31	0,35	0,07	0,58	0,69	1,00					
12	Гемосидероз	0,34	0,38	0,13	0,17	0,15	0,04	0,15	-0,17	0,51	0,78	0,74	1,00				
13	Кальцификация	0,19	0,36	0,45	0,45	0,23	0,24	0,58	0,35	0,53	0,15	0,17	0,17	1,00			
14	Нейронофагия	0,08	0,38	0,68	0,70	0,53	0,78	0,67	0,76	0,40	-0,25	-0,07	-0,19	0,48	1,00		
15	Клеточный глиоз	0,43	0,58	0,74	0,74	0,58	0,71	0,67	0,65	0,60	0,10	0,44	0,22	0,35	0,64	1,00	
16	Менингеальная воспалительная инфильтрация	0,86	0,85	0,76	0,68	0,32	-	-	-	0,84	0,65	-	0,64	0,66	0,84	0,66	1,00

П р и м е ч а н и е. Отмеченные корреляции имеют значения $\geq 0,50$ при $p < 0,05$.

Т а б л и ц а 2. Матрица факторных нагрузок после варимакс-вращения

Переменная	Фактор 1 (F1)	Фактор 2 (F2)	Фактор 3 (F3)
Экспрессия вирусного протеина NS3	0,624691*	0,433173	0,078707
Экспрессия CD68	0,566368*	0,463328	0,379418
Паренхиматозная воспалительная инфильтрация	0,735738*	0,161430	0,515474*
Степень поражения нейронов	0,519717*	0,161199	0,633830*
Выпадение нейронов	0,560419*	0,138988	0,384066
Микроглиоз	0,870826*	0,063839	0,157889
Демиелинизация	0,783287*	0,137383	0,130162
Аксональная дегенерация	0,846773*	-0,109781	0,090368
Периваскулярная воспалительная инфильтрация	0,476231	0,603526*	0,429991
Периваскулярный склероз	-0,007859	0,854640*	-0,041536
Периваскулярные кровоизлияния	0,223210	0,806183*	0,010866
Гемосидероз	-0,024680	0,882771*	0,015081
Кальцификация	0,209316	0,193972	0,489487*
Нейронофагия	0,258685	-0,210550	0,861037*
Клеточный глиоз	0,428723	0,162381	0,566915*
Менингеальная воспалительная инфильтрация	-0,116167	0,199860	0,685784*
Общая дисперсия	4,510718	3,180813	2,974789
Доля общности	0,281920	0,198801	0,185924

П р и м е ч а н и е. * – факторные нагрузки более 0,500000, $p < 0,05$.

По результатам варимакс-вращения выделено три фактора, определяющих морфогенез поражения головного мозга при хронической HCV-инфекции. Суммарная информативность трех факторов (доля общности) составила 65 % при $p < 0,05$, что считается приемлемым результатом [10, 11].

По первому фактору высокие нагрузки имеют такие критерии, как микроглиоз ($r = 0,87$), аксональная дегенерация ($r = 0,84$), демиелинизация ($r = 0,78$), паренхиматозное воспаление ($r = 0,73$), экспрессия вирусного протеина ($r = 0,62$), экспрессия CD68 ($r = 0,56$), выпадение нейронов

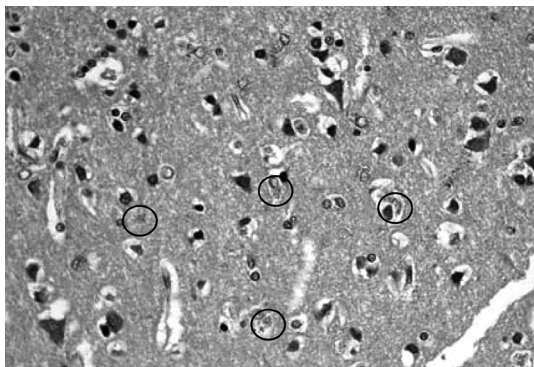


Рис. 1. Лобная доля, поле 10. NS3-позитивные клетки микроглии в коре мозга (частично обведены) Сателлитоз и дистрофические изменения нейронов. Окраска: иммуногистохимическая реакция с антителом к NS3. $\times 200$

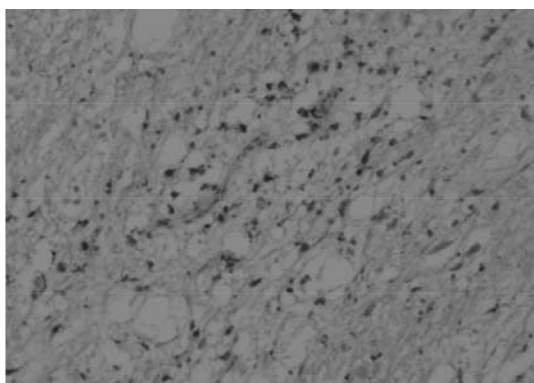


Рис. 2. Варолиев мост: микроглиальный узелок с деструкцией и разряжением белого вещества. Окраска: иммуногистохимическая реакция с АТ к CD68. $\times 400$

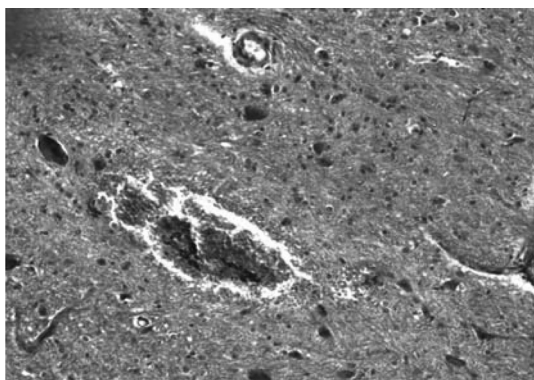


Рис. 3. Продолговатый мозг. Деструкция сосудистой стенки с развитием периваскулярного кровоизлияния. Окраска по Ван-Гизону. $\times 200$

($r = 0,56$) и степень поражения нейронов ($r = 0,51$). Поскольку эти критерии характеризуют реактивные изменения вещества мозга, а также значимо коррелируют с уровнем экспрессии вирусного протеина, первый фактор можно определить как энцефалитический.

По второму фактору высокие нагрузки наблюдаются по таким критериям, как гемосидероз ($r = 0,88$), периваскулярный склероз ($r = 0,85$), периваскулярные кровоизлияния ($r = 0,60$) и периваскулярная воспалительная инфильтрация ($r = 0,60$). Данные критерии указывают на патологию, связанную с церебральными сосудами, а их сочетание может быть интерпретировано как ангиопатический фактор.

Третий фактор влияет на следующие критерии: нейронофагию ($r = 0,86$), менингеальную инфильтрацию ($r = 0,68$), степень поражения нейронов ($r = 0,63$), клеточный глиоз ($r = 0,56$), паренхиматозную воспалительную инфильтрацию ($r = 0,51$) и кальцификацию ($r = 0,48$). Исходя из содержания критериев, данный фактор можно определить как воспалительно-дистрофический.

Таким образом, достигнут формальный результат факторного анализа, заключающийся в переходе от множества переменных, относящихся к исходным данным, к существенно меньшему числу новых переменных (факторов) при сохранении информативности [10, 11]. Результаты проведенного анализа согласуются с данными литературы о том, что морфологические изменения головного мозга при хронической HCV-инфекции связаны с опосредуемой HCV гиперактивацией микроглии, следствием чего является избыточный синтез этими клетками различных нейротоксичных молекул. В свою очередь это приводит к вторичному эксайтотоксическому повреждению нейронов и запуску каскада воспалительных реакций в веществе мозга [2–4, 6, 12] (рис. 1, 2). Значительную роль в развитии патологического процесса играет также патология сосудов. В литературе указывается на иммунный характер повреждения сосудистой стенки, результатом чего является ишемия нервной ткани и/или возникновение внутримозговых кровоизлияний, в том числе с летальным исходом [1, 2, 4, 9] (рис. 3). Выявленный воспалительно-дистрофический фактор отражает неспецифические изменения вещества мозга, наиболее часто наблюдаемые при рассматриваемой патологии [1, 2, 9].

Заключение. В результате проведенного исследования установлена и проанализирована факторная структура морфологических изменений головного мозга при хронической HCV-инфекции. В процессе преобразования исходных морфологических данных методом факторного анализа выделены три скрытых фактора, которые, исходя из их содержания, интерпретированы как энцефалитический, ангиопатический и воспалительно-дистрофический. Выделенные факторы

в наибольшей степени влияют на развитие морфологических изменений мозга, наблюдаемых при исследуемой патологии.

Полученные данные позволили дать обоснование морфогенетической концепции поражения головного мозга при хронической HCV-инфекции и могут быть использованы для выбора перспективных направлений дальнейших исследований.

Список использованной литературы

1. Внепеченочные проявления хронических вирусных гепатитов В и С / О. Л. Арямкина [и др.] // Рос. мед. журн. – 2006. – № 1. – С. 6–8.
2. Цинзерлинг, В. А. Инфекционные поражения нервной системы: вопросы этиологии, патогенеза и диагностики: руководство для врачей / В. А. Цинзерлинг, М. Л. Чухловина. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2011. – 584 с.
3. Cerebral immune activation in chronic hepatitis C infection: a magnetic resonance spectroscopy study / D. M. Forton [et al.] // J. of Hepatol. – 2008. – Vol. 49, N 3. – P. 316–322.
4. Monoaminergic neurotransmission is altered in hepatitis C virus infected patients with chronic fatigue and cognitive impairment / K. Weissenborn [et al.] // Gut. – 2006. – Vol. 55, N 11. – P. 1624–1630.
5. Search for hepatitis C virus PNA sequence and analysis of viral sequence in the central nervous system: evidence of replication / M. Radkowski [et al.] // J. of Virol. – 2002. – Vol. 76, N 2. – P. 600–608.
6. Hepatitis C Virus Neuroinvasion: Identification of Infected Cells / J. Wilkinson [et al.] // J. of Virol. – 2009. – Vol. 83, N 3. – P. 1312–1319.
7. Identification of Unique Hepatitis C Virus Quasispecies in the Central Nervous System and Comparative Analysis of Internal Translational Efficiency of Brain, Liver, and Serum Variants / D. M. Forton [et al.] // J. of Virol. – 2004. – Vol. 78, N 10. – P. 5170–5183.
8. Immunohistochemical Detection of HCV in Nerves and Muscles of Patients with HCV Associated Peripheral Neuropathy and Myositis / Layla K. Younis [et al.] // Inter. J. of Health Sci. – 2007. – Vol. 1, N 2. – P. 195–202.
9. Майбогин, А. М. Изменения гиппокампа и стволовых отделов головного мозга при циррозе печени в исходе хронического вирусного гепатита С / А. М. Майбогин, М. К. Недзьведь // Нейроиммунология. – 2013. – Т. 11, № 1/2. – С. 93–94.
10. Волынский, Ю. Д. Многомерный анализ клинических данных / Ю. Д. Волынский, А. И. Курочкина // Вестн. АМН СССР. – 1987. – № 1. – С. 84–93.
11. Иберла, К. Факторный анализ / К. Иберла; пер. с нем. В. М. Ивановой. – М.: Статистика, 1980. – 398 стр.
12. Метод морфологической диагностики микроглиоза в белом веществе головного мозга: инструкция по применению / А. М. Майбогин, М. К. Недзьведь, Г. М. Карапетян; утв. М-вом здравоохран. Респ. Беларусь 11.11.2014. – Гомель: Гомел. гос. мед. ун-т, 2014. – 18 с.
13. Immunophenotyping of Inflammatory Cells Associated with Schmallenberg Virus / V. Herder [et al.] // PLoS ONE [Electronic resource]. – San Francisco, 2013. – Mode of access: <http://eprints.gla.ac.uk/82681/1/82681.pdf>. – Date of access: 14.09.2014.
14. Чубинидзе, А. И. К методике гистологического (морфологического) определения степени поражения центральной нервной системы / А. И. Чубинидзе // Архив патологии. – 1972. – № 11. – С. 77–78.

Поступила в редакцию 05.02.2016

УДК 616.62-006.6:577.23+572.7 (476)

Т. И. НАБЕБИНА, А. И. РОЛЕВИЧ, А. Ч. ДУБРОВСКИЙ, С. Л. ПОЛЯКОВ, С. А. КРАСНЫЙ

**ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ
И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ
ПРИ ПЕРЕХОДНО-КЛЕТОЧНОМ НЕИНВАЗИВНОМ РАКЕ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ**

*Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии
им. Н. Н. Александрова, Минск, Беларусь, e-mail: nabebina.t@yandex.by, alexander.rolevich@gmail.com,
dubr@omr.med.by, s.polyakov@yahoo.com, sergeykrasny@tut.by*

Оценено прогностическое значение стандартных гистологических и молекулярно-биологических признаков при переходном-клеточном раке мочевого пузыря без мышечной инвазии в группе пациентов с высоким риском прогрессирования по критериям EORTC; определена группа лиц, которым показано выполнение ранней цистэктомии.

Ретроспективно изучены доступные данные о характере течения заболевания и последующем наблюдении 179 пациентов, пролеченных в 2004–2007 гг. посредством выполнения трансуретральной резекции (с/без последующей интратрипузырной терапии). С помощью световой микроскопии препаратов определены стандартные гистологические характеристики переходного-клеточного рака, в опухолевом материале с помощью иммуногистохимических методов установлены уровни экспрессии Ki67, p53, p63, CK 20, CK 18, CK 10/13 и CK 5/6. Проведена статистическая обработка результатов, изучена корреляция вышеуказанных параметров с показателем выживаемости без прогрессирования (PFS, определяемая как развитие инвазии мышечного слоя, метастазов или смерти от рака).

Установлено, что отношение рисков прогрессирования заболевания в течение 5 лет у пациентов, страдающих переходным-клеточным раком, с наличием в опухоли позитивной ядерной реакции с антителами к белку p53 в 50 % и более клеток опухоли и/или позитивной цитоплазматической реакции с антителами к CK 5/6 в 50 % и более клеток опухоли, по сравнению с пациентами, не имеющими указанных факторов негативного прогноза, составляет 3,97 (95 %-ный доверительный интервал 2,25–7,01) ($p < 0,001$).

Ключевые слова: рак мочевого пузыря без мышечной инвазии, вероятность прогрессирования, прогностическое значение стандартных гистологических и молекулярно-биологических признаков, гиперэкспрессия p53 и CK 5/6.

T. NABEBINA, A. ROLEVICH, A. DUBROUSKI, S. POLYAKOV, S. KRASNY

**PROGNOSTIC VALUE OF HISTOLOGICAL AND MOLECULAR-BIOLOGICAL CHARACTERISTICS
IN TRANSITIONAL-CELL NON-MUSCLE INVASIVE BLADDER CANCER**

*N. N. Alexandrov National Research Cancer Centre, Minsk, Belarus, e-mail: nabebina.t@yandex.by,
alexander.rolevich@gmail.com, dubr@omr.med.by, s.polyakov@yahoo.com, sergeykrasny@tut.by*

The prediction of disease progression in patients with high-risk transitional-cell non-muscle invasive bladder cancer (NMIBC) can help in the decision-making for patients eligible to early cystectomy. In this study we evaluated the association of different immunohistochemical tissue markers in patients with NMIBC at a high risk of disease progression.

179 patients with NMIBC that underwent complete TUR ± intravesical therapy between 2004 and 2007 and available follow-up were selected. Microscopic slides were reviewed: tumour stage, grade (WHO 1973 and 2004), the presence of carcinoma *in situ* and lymphovascular invasion was determined. Additionally, the expression of Ki67, p53, p63, CK 20, CK 18, CK 10/13 and CK 5/6 was determined after immunohistochemical staining of paraffin embedded tissue samples. The pathology results were correlated with the progression-free survival (PFS defined as the development of the muscle invasive disease, metastases or the death from cancer).

5-year PFS in patients with positive nuclear staining (≥ 50 %) with p53 antibodies and/or positive cytoplasm staining with CK 5/6 (≥ 50 %) was 55 % (95 % CI 39–70) compared to 84 % (95 % CI 77–90) in patients without the expression of these markers (HR 4.0, 95 % CI 2.2–7.0) ($p < 0.001$).

Keywords: non-muscle invasive bladder cancer, progression probability, prognostic value of histological and molecular characteristics, p53 and CK 5/6 over expression.

Введение. В Республике Беларусь в структуре всех злокачественных новообразований частота переходно-клеточного рака мочевого пузыря в 2014 г. составила 2,7 %; среди вновь заболевших мужчин его доля достигла 4,4 %, а среди женщин – 1,1 %. В 2004–2013 гг. отмечалось увеличение частоты выявления новых случаев рака мочевого пузыря – от 11,4 до 12,7 случая на 100 000 жителей. Заболеваемость женщин в среднем в 7 раз ниже, чем мужчин: 15,2 и 2,1 случая на 100 000 жителей соответствующего пола (стандартизованные показатели за 2009–2013 гг.) [1].

При первичной диагностике 75–85 % опухолей мочевого пузыря относятся к раку мочевого пузыря без инвазии в мышечный слой (РМПБМИ), который объединяет неинвазивный (pTa и карцинома *in situ*, соответственно 70 и 5–10 % всех случаев) и инвазирующий подслизистую соединительную ткань переходно-клеточный рак (pT1, 20–25 %) [2]. Это гетерогенная группа опухолей с различной частотой рецидивирования и дальнейшего прогрессирования с инвазией в мышечный слой: возможность рецидива в течение первого года после проведенного лечения составляет, по разным данным, от 15 до 70 %, вероятность прогрессирования в течение 5 лет от начала заболевания – от 7 до 40 % [2, 3]. По этой причине для выявления возможного рецидива и прогрессирования заболевания пациентов, страдающих РМПБМИ, регулярно обследуют, проводя цистоскопию и гистологическое исследование материала. Необходимость обеспечения непрерывного наблюдения и лечения пациентов с РМПБМИ делает это заболевание самым дорогостоящим (в расчете на одного пациента от момента постановки диагноза до смерти) [4, 5].

Основным способом лечения пациентов, страдающих переходно-клеточным РМПБМИ, является органосохраняющий: выполнение трансуретральной резекции с/без последующей внутривезикулярной терапии (вакцина БЦЖ, химиотерапия). У некоторых пациентов после проведенного лечения заболевание прогрессирует с развитием инвазии мышечного слоя и метастазирования. Самый известный способ оценки вероятности прогрессирования заболевания предложен EORTC (Европейская организация по изучению и лечению рака) [3]. Для средневзвешенной оценки используют 6 переменных: степень злокачественности (ВОЗ, 1973 (G1, G2, G3)), степень местной распространенности (pTa, pT1), наличие карциномы *in situ* (CIS), множественность (единичная опухоль, от 2 до 7, 8 и более опухолей) и размеры опухоли (до 3 см, 3 см и более), число предшествующих рецидивов (первичная опухоль, не более 1 рецидива в год, более 1 рецидива в год). Различные сочетания вышеуказанных параметров позволяют вычислить индекс риска прогрессирования с развитием мышечной инвазии в баллах – от 0 (самый благоприятный прогноз) до 23 (самый неблагоприятный прогноз). Наиболее важными переменными для прогнозирования прогрессирования заболевания являются степень злокачественности опухоли, степень местной распространенности и наличие CIS. На основании вычисленного индекса пациентов разделяют на три группы – с низким, промежуточным и высоким риском прогрессирования. В группе лиц с высоким риском вероятность развития прогрессирования в течение 5 лет составляет 45 % (95 %-ный доверительный интервал (ДИ) 35–55). В случае развития инвазии мышечного слоя и/или метастазирования раково-специфическая выживаемость, несмотря проводимое на агрессивное лечение, составляет всего 35 % [6, 7]. Цистэктомия может предотвратить прогрессирование опухолевого процесса и связанное с этим резкое ухудшение прогноза заболевания [8]. Однако даже в группе пациентов с высоким риском прогрессирования рекомендуемая ранняя цистэктомия может оказаться избыточным травматичным вмешательством в 45–65 % случаев [3, 6–9]. Это определяет необходимость поиска дополнительных характеристик опухоли, определяющих неблагоприятное течение заболевания.

Цель нашего исследования – изучить прогностическое значение стандартных гистологических и молекулярно-биологических признаков при раке мочевого пузыря без инвазии в мышечный слой у лиц с высоким риском прогрессирования по критериям EORTC и определить подгруппу пациентов, которым показано выполнение ранней цистэктомии.

Материалы и методы исследования. Работа основана на ретроспективном анализе данных медицинской документации, архивных микропрепаратов, опухолевого материала пациентов с патологическими процессами мочевого пузыря, пролеченных в онкоурологическом отделении РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова в 2004–2007 гг. Проанализированы доступные данные о характере течения заболевания и последующем наблюдении 375 пациентов с гистологически верифи-

цированным переходно-клеточным раком. У всех пациентов указанной группы определен риск развития прогрессирования заболевания согласно критериям EORTC. В дальнейшее исследование включена группа из 179 пациентов, имевших индекс риска развития прогрессирования в мышечную инвазию от 7 до 15 баллов, т. е. высокий риск прогрессирования. Клинические характеристики пациентов приведены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. Клиническая характеристика пациентов

Показатель	К-во пациентов	
	абс.	отн.
Пол:		
женский	41	22,9
мужской	138	77,1
Возраст, лет:		
< 50	17	9,5
50–59	45	25,1
60–69	49	27,4
70–79	57	31,8
80 и старше	11	6,1
Медиана возраста (min–max), лет	65 (29–92)	
Статус рецидивирования:		
первичные	114	63,7
1 рецидив и менее в год	43	24
более 1 рецидива в год	22	12,3
Количество опухолей:		
одиночная	44	24,6
2–7	100	55,9
8 и более	35	19,6
Медиана количества опухолей (min–max)	3 (1–21)	
Изменения слизистой:		
нет	150	83,8
есть	29	16,2
Размер опухоли в наибольшем измерении, см:		
до 3	96	53,6
3 и более	78	43,6
нет данных	5	2,8
Медиана размера опухоли (min–max), см	2,2 (0,1–9)	
Адьювантная внутрипузырная терапия:		
нет	107	59,8
иммунотерапия БЦЖ	70	39,1
внутрипузырная химиотерапия	2	1,1
Повторная ТУР:		
нет	175	97,8
да	4	2,2

Патологоанатомы, участвовавшие в исследовании, не имели доступа к данным о результатах последующего наблюдения за пациентом и характере течения заболевания.

Посредством световой микроскопии оценены гистологические характеристики переходно-клеточного рака в микропрепаратах, окрашенных гематоксилином–эозином. Определение степени злокачественности переходно-клеточного рака проведено по классификационным системам, принятыми ВОЗ в 1973 г. и 2004 гг., с применением диагностического алгоритма для переходно-клеточных новообразований мочевого пузыря [10–13]. Если в опухоли наблюдалась более чем одна степень дифференцировки, то степень злокачественности опухоли определяли по самому низкодифференцированному компоненту, при условии, что данный компонент составлял 5 %

и более опухолевой ткани. Внутриэпителиальный рак характеризовался максимальной выраженностью признаков клеточной и тканевой атипии в пределах переходного эпителия [14].

Субстадирование категории T1 проведено по системе, которая различает T1-микроинвазивную (T1m – единичный очаг инвазии собственной пластинки 0,5 мм и менее (в пределах одного поля зрения, $\times 400$)) и T1-широкоинвазивную (T1e – очаг инвазии собственной пластинки более 0,5 мм либо множественные микроинвазивные поля) опухоли [15]. Оценено наличие инвазии опухоли в просвет сосудов.

Молекулярно-биологические характеристики опухоли определяли путем выполнения иммуногистохимического исследования по общепринятой методике. Использованы следующие клоны первичных антител: Ki67 – клон MIB-1, готовые к употреблению (RTU), p53 – клон DO-7 (рабочее разведение 1:300), p63 – клон 4A4 (рабочее разведение 1:300), CK 5/6 – клон DS/16B4 (рабочее разведение 1:50), CK 10/13 – клон DE-K13 (рабочее разведение 1:200), CK 20 – клон Ks20.8 (рабочее разведение 1:100), CK 18 – клон DC10 (рабочее разведение 1:300). В качестве визуализирующей использована система Dako En Vision + Dual Link System-HRP, pH демаскировочного буфера 9,0.

Результаты иммуногистохимической реакции оценены при помощи световой микроскопии с учетом характера экспрессии (позитивная окраска ядра опухолевой клетки – для p53, Ki-67, p63, позитивная окраска цитоплазмы клеток – для цитокератинов CK 5/6, CK 10/13, CK 18, CK 20). Количество позитивно окрашенных клеток оценивали в 5 различных полях зрения при 400-кратном увеличении (окуляр $\times 10$, объектив $\times 40$). Для подсчета выбирали поля зрения, демонстрирующие различную частоту окраски ядер или цитоплазмы опухолевых клеток, обязательно включающие поле зрения с максимальным количеством позитивных клеток. При определении фенотипа опухоли учитывали, что при «базальноклеточном» фенотипе имеется позитивная реакция с антителами к CK 5/6 в 50 % и более клеток опухоли, а при «люминальном» уровень экспрессии CK 20 в опухолевых клетках составляет 50 % и более.

Степень связи между анализируемыми показателями определяли по величине критерия χ^2 Пирсона (χ^2 -тест). Данные об отдаленных результатах лечения получены из медицинской документации и канцер-регистра Республики Беларусь. Выживаемость без прогрессирования (определяемая как развитие инвазии мышечного слоя, метастазирования или смерти от рака), безрецидивную, скорректированную и общую выживаемость пациентов рассчитывали моментным методом Каплана–Мейера. Моно- и мультивариантные анализы факторов прогноза в отношении выживаемости без прогрессирования проведены с использованием модели пропорциональных рисков Кокса. Прогностическое значение исследуемых характеристик оценивали, анализируя показатель выживаемости по Каплану–Мейеру и логарифмический ранговый критерий (log-rank). При всех видах статистического анализа различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Статистический анализ полученных данных проведен с помощью пакета прикладных программ для медико-биологических исследований IBM SPSS Statistics for Windows v.21.0 (IBM Corp., Armonk, NY, США, 2012), STATISTICA v.7.0 (Stat Soft, Inc., 2004).

Результаты и их обсуждение. При световой микроскопии архивных микропрепаратов, окрашенных гематоксилином–эозином, степень злокачественности опухоли по системе ВОЗ, 1973 определена как высокодифференцированный рак (grade I) в 51 (28,4 %) случае, умеренно дифференцированный (grade II) – в 96 (53,6 %), низкодифференцированный (grade III) – в 32 (17,8 %). При определении степени злокачественности по системе ВОЗ, 2004 в 27 (15,1 %) случаях установлена папиллярная переходно-клеточная опухоль с низким злокачественным потенциалом, в 79 (44,1 %) случаях выявлен папиллярный переходно-клеточный рак низкой степени злокачественности, в 73 (40,8 %) – папиллярный переходно-клеточный рак высокой степени злокачественности. Степень местной распространенности pT1 (наличие инвазии базальной мембраны) установлена у 98 пациентов: pT1m – у 31 (17,3 %), pT1e – у 54 (30,2 %). В 13 (7,3 %) случаях степень местной распространенности определена как \geq pT1e. В данном случае опухоль вызывала выраженный стромальный фиброзный ответ в подслизистом слое и не имела достоверных гистологических признаков инвазии в мышечный слой стенки мочевого пузыря. В 81 (45,2 %) случае инвазия подслизистого слоя (pTa) отсутствовала. В 23 (12,8 %) случаях клеточная и тканевая

атипия в пределах переходного эпителия имели максимальную выраженность, эти изменения охарактеризованы как переходно-клеточный рак *in situ*. Лимфососудистая инвазия выявлена в 11 (6,1 %) случаях.

Результаты иммуногистохимического определения молекулярно-биологических характеристик опухоли приведены в табл. 2. Переходно-клеточный рак мочевого пузыря пациентов исследуемой группы характеризовался низкой пролиферативной активностью (измерена посредством определения уровня экспрессии Ki67) – в 104 (58,1 %) случаях менее 10 % опухолевых клеток демонстрировали позитивную ядерную окраску. Опухоли с высоким уровнем экспрессии (более 30 % опухолевых клеток) определены у 12 (6,7 %) пациентов. Высокий уровень экспрессии p63 (более 30 % позитивных клеток) отмечен у 132 (73,7 %) человек, экспрессия p53 более чем в 30 % клеток опухоли – у 49 (27,3 %). Базальный фенотип определен у 6 (3,4 %) пациентов, уровень экспрессии СК 10/13 более чем в 30 % клеток опухоли – у 44,1 %. Люминальный фенотип обнаружен у 40 (22,3 %) человек.

Т а б л и ц а 2. Распределение пациентов в зависимости от уровня экспрессии молекулярно-биологических маркеров

Показатель	Уровень экспрессии опухолевых клеток			
	< 10 %	10–30 %	31–49 %	≥ 50 %
Ki67	104 (58,1 %)	69 (35,2 %)	8 (4,5 %)	4 (2,2 %)
p53	87 (48,6 %)	43 (24,0 %)	11 (6,1 %)	38 (21,2 %)
p63	21 (11,7 %)	26 (14,5 %)	19 (10,6 %)	113 (63,1 %)
СК 5/6	157 (87,7 %)	14 (7,8 %)	2 (1,1 %)	6 (3,4 %)
СК 10/13	71 (39,7 %)	29 (16,2 %)	5 (2,8 %)	74 (41,3 %)
СК 18	44 (24,6 %)	46 (25,7 %)	6 (3,4 %)	83 (46,6 %)
СК 20	104 (58,1 %)	29 (16,2 %)	7 (3,9 %)	39 (21,6 %)

Для оценки биологической значимости изучаемых иммуногистохимических показателей проведен тщательный анализ их связи со стандартными гистологическими факторами прогноза биологической агрессивности опухоли (степенью злокачественности, степенью местной распространенности, наличием внутриуротелиального рака). Результаты этого анализа отражены в табл. 3, 4. Уровни экспрессии Ki67, p53 и СК 20 статистически значимо коррелировали со степенью злокачественности и степенью местной распространенности опухоли. Определено снижение уровня экспрессии p63 при нарастании клеточной и тканевой атипии в переходно-клеточном раке (не более 30 %, $p = 0,003$). Не отмечено прямой корреляционной зависимости ни с одним из стандартных гистологических параметров таких показателей, как кератины СК 5/6, СК 10/13, СК 18 и кератиновые фенотипы опухолей (люминальный и базальноклеточный).

Т а б л и ц а 3. Распределение иммуногистохимических показателей у пациентов в зависимости от степени злокачественности

Показатель	К-во пациентов							
	Степень злокачественности согласно ВОЗ, 1973			<i>p</i>	Степень злокачественности согласно ВОЗ, 2004			<i>p</i>
	G1	G2	G3		PUNLMP	LGPUC	HGPUC	
p63:								
<10 %	6 (11,8 %)	8 (8,3 %)	7 (21,9 %)	0,038	1 (3,7 %)	7 (8,9 %)	13 (17,8 %)	0,18
10–30 %	6 (11,8 %)	11 (11,5 %)	9 (28,1 %)		5 (18,5 %)	11 (13,9 %)	10 (13,7 %)	
31–49 %	4 (7,8 %)	11 (11,5 %)	4 (12,5 %)		2 (7,4 %)	6 (7,6 %)	11 (15,1 %)	
≥50 %	35 (68,6 %)	66 (68,8 %)	12 (37,5 %)		19 (70,4 %)	55 (69,6 %)	39 (53,4 %)	
Ki67:								
<10 %	44 (86,3 %)	48 (50 %)	12 (37,5 %)	<0,001	25 (92,6 %)	51 (64,6 %)	28 (38,4 %)	<0,001
10–30 %	6 (11,8 %)	45 (46,9 %)	12 (37,5 %)		2 (7,4 %)	26 (32,9 %)	35 (47,9 %)	
31–49 %	0 (0 %)	2 (2,1 %)	6 (18,8 %)		0 (0 %)	1 (1,3 %)	7 (9,6 %)	
≥50 %	1 (2 %)	1 (1 %)	2 (6,3 %)		0 (0 %)	1 (1,3 %)	3 (4,1 %)	

Показатель	К-во пациентов							
	Степень злокачественности согласно ВОЗ, 1973			p	Степень злокачественности согласно ВОЗ, 2004			p
	G1	G2	G3		PUNLMP	LGPUC	HGPUC	
p53:								
<10 %	31 (60,8 %)	49 (51 %)	7 (21,9 %)	0,009	19 (70,4 %)	42 (53,2 %)	26 (35,6 %)	0,039
10–30 %	9 (17,6 %)	25 (26 %)	9 (28,1 %)		5 (18,5 %)	17 (21,5 %)	21 (28,8 %)	
31–49 %	3 (5,9 %)	6 (6,3 %)	2 (6,3 %)		2 (7,4 %)	3 (3,8 %)	6 (8,2 %)	
≥50 %	8 (15,7 %)	16 (16,7 %)	14 (43,8 %)		1 (3,7 %)	17 (21,5 %)	20 (27,4 %)	
CK 20:								
<10 %	36 (70,6 %)	55 (57,3 %)	13 (40,6 %)	0,002	20 (74,1 %)	53 (67,1 %)	31 (42,5 %)	0,018
10–30 %	6 (11,8 %)	10 (10,4 %)	13 (40,6 %)		4 (14,8 %)	7 (8,9 %)	18 (24,7 %)	
31–49 %	1 (2 %)	5 (5,2 %)	1 (3,1 %)		0 (0 %)	3 (3,8 %)	4 (5,5 %)	
≥50 %	8 (15,7 %)	26 (27,1 %)	5 (15,6 %)		3 (11,1 %)	16 (20,3 %)	20 (27,4 %)	
CK 18:								
<10 %	17 (33,3 %)	20 (20,8 %)	7 (21,9 %)	0,068	9 (33,3 %)	21 (26,6 %)	14 (19,2 %)	0,67
10–30 %	13 (25,5 %)	20 (20,8 %)	13 (40,6 %)		8 (29,6 %)	18 (22,8 %)	20 (27,4 %)	
31–49 %	0 (0 %)	4 (4,2 %)	2 (6,3 %)		0 (0 %)	3 (3,8 %)	3 (4,1 %)	
≥50 %	21 (41,2 %)	52 (54,2 %)	10 (31,3 %)		10 (37 %)	37 (46,8 %)	36 (49,3 %)	
CK 10/13:								
<10 %	16 (31,4 %)	32 (33,3 %)	23 (71,9 %)	0,002	7 (25,9 %)	28 (35,4 %)	36 (49,3 %)	0,40
10–30 %	6 (11,8 %)	20 (20,8 %)	3 (9,4 %)		5 (18,5 %)	13 (16,5 %)	11 (15,1 %)	
31–49 %	2 (3,9 %)	2 (2,1 %)	1 (3,1 %)		1 (3,7 %)	3 (3,8 %)	1 (1,4 %)	
≥50 %	27 (52,9 %)	42 (43,8 %)	5 (15,6 %)		14 (51,9 %)	35 (44,3 %)	25 (34,2 %)	
CK 5/6:								
<10 %	43 (84,3 %)	84 (87,5 %)	30 (93,8 %)	0,68	26 (96,3 %)	65 (82,3 %)	66 (90,4 %)	0,37
10–30 %	6 (11,8 %)	7 (7,3 %)	1 (3,1 %)		1 (3,7 %)	9 (11,4 %)	4 (5,5 %)	
31–49 %	0 (0 %)	2 (2,1 %)	0 (0 %)		0 (0 %)	2 (2,5 %)	0 (0 %)	
≥50 %	2 (3,9 %)	3 (3,1 %)	1 (3,1 %)		0 (0 %)	3 (3,8 %)	3 (4,1 %)	
Люминальный фенотип:								
да	8 (15,7 %)	27 (28,1 %)	5 (15,6 %)	0,13	3 (11,1 %)	17 (21,5 %)	20 (27,4 %)	0,22
нет	43 (84,3 %)	69 (71,9 %)	27 (84,4 %)		24 (88,9 %)	62 (78,5 %)	53 (72,6 %)	
Базальноклеточный фенотип:								
да	2 (3,9 %)	3 (3,1 %)	1 (3,1 %)	0,97	0 (0 %)	3 (3,8 %)	3 (4,1 %)	0,57
нет	49 (96,1 %)	93 (96,9 %)	31 (96,9 %)		27 (100 %)	76 (96,2 %)	70 (95,9 %)	

Примечание. PUNLMP – папиллярная переходно-клеточная опухоль с низким злокачественным потенциалом; LGPUC – папиллярный переходно-клеточный рак низкой степени злокачественности; HGPUC – папиллярный переходно-клеточный рак высокой степени злокачественности.

Таблица 4. Распределение иммуногистохимических показателей у пациентов в зависимости от категории pT

Показатель	К-во пациентов		
	pTа/pT1m	pT1e/не менее pT1e	p
p63:			
<10 %	13 (11,6 %)	8 (7,1 %)	0,79
10–30 %	14 (12,5 %)	12 (10,7 %)	
31–49 %	12 (10,7 %)	7 (6,3 %)	
≥50 %	73 (65,2 %)	40 (35,7 %)	
Ki67:			
<10 %	74 (66,1 %)	30 (26,8 %)	0,004
10–30 %	35 (31,3 %)	28 (25,0 %)	
31–49 %	1 (0,9 %)	7 (6,3 %)	
≥50 %	2 (1,8 %)	2 (1,8 %)	

Окончание табл. 4

Показатель	К-во пациентов		
	pTa/pT1m	pT1e/не менее pT1e	<i>p</i>
p53:			
<10 %	64 (57,1 %)	23 (20,5 %)	0,019
10–30 %	25 (22,3 %)	18 (16,1 %)	
31–49 %	5 (4,5 %)	6 (5,4 %)	
≥50 %	18 (16,1 %)	20 (17,9 %)	
СК 20:			
<10 %	72 (64,3 %)	32 (28,6 %)	0,021
10–30 %	11 (9,8 %)	18 (16,1 %)	
31–49 %	5 (4,5 %)	2 (1,8 %)	
≥50 %	24 (21,4 %)	15 (13,4 %)	
СК 18:			
<10 %	31 (27,7 %)	13 (11,6 %)	0,58
10–30 %	26 (23,2 %)	20 (17,9 %)	
31–49 %	4 (3,6 %)	2 (1,8 %)	
≥50 %	51 (45,5 %)	32 (28,6 %)	
СК 10/13:			
<10 %	41 (36,6 %)	30 (26,8 %)	0,65
10–30 %	19 (17,0 %)	10 (8,9 %)	
31–49 %	4 (3,6 %)	1 (0,9 %)	
≥50 %	48 (42,9 %)	26 (23,2 %)	
СК 5/6:			
< 10 %	99 (88,4 %)	58 (51,8 %)	0,62
10–30 %	8 (7,1 %)	6 (5,4 %)	
31–49 %	2 (1,8 %)	0	
≥ 50 %	3 (2,7 %)	3 (2,7 %)	
Люминальный фенотип:			
да	25 (22,3 %)	15 (13,4 %)	0,99
нет	87 (77,7 %)	52 (46,4 %)	
Базальноклеточный фенотип:			
да	3 (2,7 %)	3 (2,7 %)	0,83
нет	109 (97,3 %)	64 (57,1 %)	

Изучены отдаленные результаты лечения пациентов. Медиана времени наблюдения в исследовании составила 80,0 мес. (95 % ДИ 75,7–84,3), время наблюдения колебалось от 9 до 102 мес. За этот период рецидивирование заболевания зарегистрировано у 81 (45,3 %) пациента, у 26 (14,5 %) человек заболевание прогрессировало с развитием инвазии мышечного слоя мочевого пузыря и/или метастазов опухоли, 62 (34,5 %) пациента умерли в течение периода наблюдения, в том числе 33 (18,4 %) – от рака мочевого пузыря. Пятилетние показатели кумулятивной безрецидивной выживаемости составили 53,6 % (95 % ДИ 46,0–61,2), выживаемости без прогрессирования – 77,6 % (95 % ДИ 71,3–83,9), скорректированной выживаемости – 86,6 % (95 % ДИ 81,3–91,9) и общей выживаемости – 74,7 % (95 % ДИ 68,2–81,2).

При моновариантном анализе статистически значимая связь с риском прогрессирования отмечена для двух показателей: уровня экспрессии p53 не менее чем в 50 % клеток опухоли, базальноклеточного фенотипа опухоли. Практически достигали уровня статистической значимости такие показатели, как позитивная реакция с Ki67 ≥ 10 % клеток опухоли и уровень экспрессии СК 10/13 более чем в 30 % опухолевых клеток ($p = 0,055$ и $p = 0,068$ соответственно). Среди других исследуемых стандартных гистологических и иммуногистохимических признаков статистически значимых факторов прогноза выживаемости при РМПБМИ не выявлено (табл. 5). При последующем пошаговом мультивариантном анализе с включением потенциально значимых факторов прогноза в отношении выживаемости без прогрессирования ($p < 0,1$), определенных при моновариантном анализе, выявлено три признака, имеющих статистически значимую прогностическую

ценность: позитивная реакция с p53 не менее чем в 50 % клеток опухоли, базальноклеточный фенотип опухоли (уровень экспрессии СК 5/6 50 % и более), а также позитивная реакция с СК 10/13 более чем в 30 % опухолевых клеток. Включение данных показателей в мультивариантную модель с добавлением стандартных показателей риска, рекомендованных EORTC, подтвердило независимое прогностическое значение таких факторов, как p53 (отношение рисков (ОР) 3,63; 95 % ДИ 1,92–6,85; $p < 0,001$) и базальноклеточный фенотип опухоли (ОР 5,03; 95 % ДИ 1,30–19,41; $p = 0,019$).

Т а б л и ц а 5. Результаты моновариантного анализа связи гистологических и молекулярно-биологических факторов с риском прогрессирования

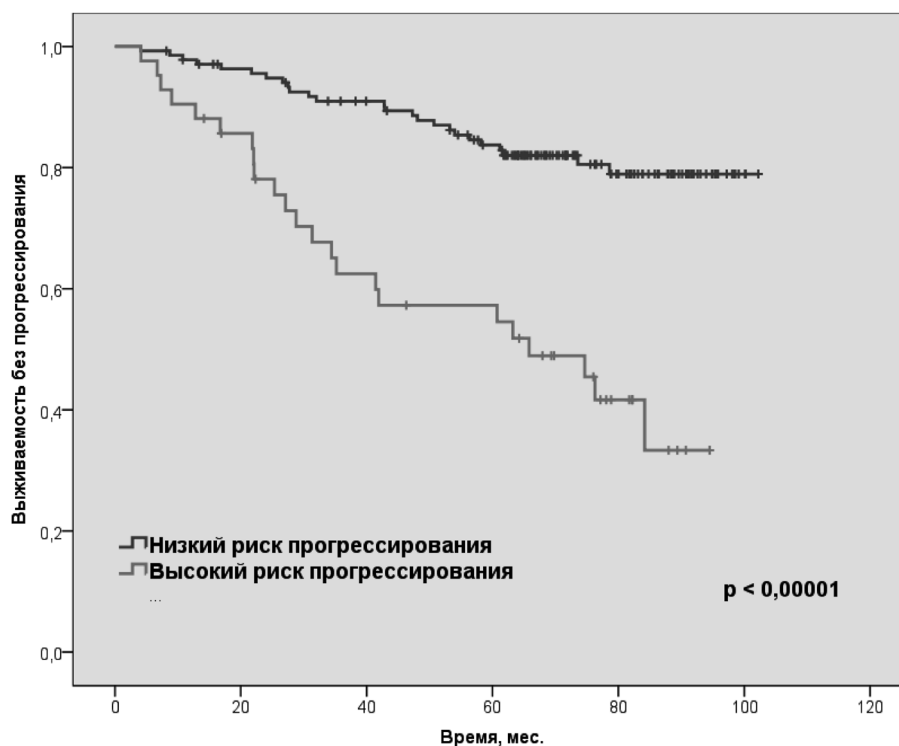
Показатель	ОР	95 % ДИ	p
Степень злокачественности согласно ВОЗ, 1973:			
G1	1,0	–	–
G2	1,35	0,67–2,74	0,40
G3	1,90	0,82–4,39	0,13
Степень злокачественности согласно ВОЗ, 2004:			
PUNLMP	–	–	–
LGPUC	1,90	0,65–5,54	0,24
HGPUC	2,59	0,90–7,50	0,079
Степень местной распространенности pT1e/Ta	1,03	0,57–1,84	0,93
Наличие рака <i>in situ</i>	1,40	0,63–3,13	0,41
Лимфососудистая инвазия:			
да	0,89	0,28–2,86	0,84
нет	6,55	0,67–64,4	0,11
p63: $\leq 30\% / > 30\%$	1,60	0,79–3,22	0,19
Ki67: $< 10\% / 10–30\%$	1,80	0,99–3,27	0,055
p53: $< 50\% / \geq 50\%$	3,73	2,11–6,61	$< 0,001$
СК 20: $\leq 30\% / > 30\%$	0,84	0,43–1,64	0,60
СК 18: $\leq 30\% / > 30\%$	1,21	0,68–2,13	0,52
СК 10/13: $\leq 30\% / > 30\%$	0,57	0,31–1,04	0,068
СК 5/6: $< 10\% / \geq 10\%$	1,46	0,68–3,12	0,33
Люминальный фенотип	1,02	0,52–2,01	0,94
Базальноклеточный фенотип	4,01	1,43–11,21	0,008

П р и м е ч а н и е. ОР – отношение рисков. Остальные обозначения как в табл. 3.

Анализ выживаемости без прогрессирования в зависимости от присутствия/отсутствия одного или более неблагоприятных факторов показал выраженные статистически значимые ($p < 0,0001$) различия. В группе пациентов, у которых в опухоли отмечалась позитивная ядерная реакция с антителами к p53 в 50 % клеток опухоли и более и/или позитивная цитоплазматическая реакция с антителами к СК 5/6 в 50 % клеток опухоли и более, 5-летняя выживаемость без прогрессирования составила 57,3 % (95 % ДИ 41,8–65,2), в группе пациентов, не имеющих дополнительных факторов негативного прогноза, – 83,7 % (95 % ДИ 77,2–87,0). Отношение рисков развития прогрессирования в данных группах составило 3,97 (95 % ДИ 2,25–7,01) (см. рисунок).

Точная стратификация пациентов, страдающих РМПБМИ, по степени риска прогрессирования представляет собой особую проблему для урологов. Постоянно предпринимаются попытки выделить подгруппу пациентов, у которых применение ранней цистэктомии было бы обоснованным [16–19].

Ряд исследований показал, что определение p53 может помочь стратифицировать гетерогенную популяцию пациентов, страдающих РМПБМИ, на группы риска и выбрать тактику лечения. Существуют противоречивые данные относительно того, что иммуногистохимическое определение p53 может надежно классифицировать пациентов с pT1 опухолями в различные группы риска неблагоприятного клинического исхода [20, 21]. Согласно анализу The International Study Initiative on Bladder Cancer (ISBC), который объединил результаты иммуногистохимического



Выживаемость без прогрессирования в зависимости от иммуногистохимических показателей (низкий риск – реакция с антителами к p53 и/или СК 5/6 менее чем в 50 % клеток опухоли, высокий риск – реакция с антителами к p53 и/или СК 5/6 в 50 % и более клеток опухоли)

окрашивания p53, проведенного в 26 различных исследованиях (929 пациентов с переходно-клеточным раком мочевого пузыря pT1), установлено независимое прогностическое значение p53 в многофакторном анализе в отношении прогрессии, но не общей выживаемости [22]. В то же время использование p53 до сих пор не является общепринятым, несмотря на более чем 100 исследований, оценивающих его полезность у пациентов с переходно-клеточным раком. Одна из причин этого приведена в мета-анализе 117 исследований с более чем 10 000 пациентов. Этот мета-анализ показал неоднозначную ценность определения p53, поскольку данный показатель имел самостоятельное прогностическое значение относительно рецидива, прогрессирования и смертности только в 26 % (9 из 34), 50 % (12 из 24) и 29 % (10 из 35) исследований соответственно [23].

Благодаря достижениям в области исследования генома рака мочевого пузыря были выделены молекулярные подтипы рака мочевого пузыря, что, по-видимому, позволит сформировать более эффективные стратегии лечения и наблюдения пациентов [24]. Так, G. Sjodahl и соавт. определили 5 основных молекулярных подтипов уротелиальной карциномы: уробазальный A, генетически нестабильный, уробазальный B, подобный плоскоклеточному раку и не относящийся к вышеуказанным. Для вышеперечисленных подтипов были характерны различные результаты выживаемости. Так, подтипы «уробазальный B» и «подобный плоскоклеточному раку» имели неблагоприятный прогноз. Молекулярные подтипы не коррелировали с патогистологическими характеристиками опухоли (стадией процесса и степенью злокачественности) [25, 26]. В исследовании предложена несложная схема определения молекулярного подтипа переходно-клеточного рака, которая может быть использована в клинике. Схема основана на гистологических признаках (степень злокачественности по системе ВОЗ, 1999 и «уротелий-подобное» строение) и иммуногистохимических характеристиках опухоли (уровень пролиферативной активности и экспрессии кератина 5). J. P. Volkmer и соавт. [27] классифицировали рак мочевого пузыря на три подтипа на основе их степени дифференцировки: базальный, промежуточный и дифференцированный. Они обнаружили, что наличие кератина 14 (*KRT14*) обозначает самую примитивную дифференцировку и, соответственно, связано с худшим прогнозом. Примечательно, что базальный подтип

имел сходство с подтипом «подобный плоскоклеточному раку» (исследование G. Sjodahl, 2012): *KRT14* гиперэкспрессировался в обоих подтипах. W. Choi и соавт. [28] описали три молекулярных подтипа мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря: базальный характеризовался активацией p53, плоскоклеточной дифференцировкой и более высокой стадией заболевания при первичной диагностике; в люминальном подтипе определялись активирующие мутации FGFR3 и потенциальная чувствительность ингибитора FGFR; p53-подобный рак был устойчив к неоадьювантной химиотерапии метотрексатом, винбластином, доксорубицином и цисплатином.

Результаты проведенного нами исследования согласуются с приведенными выше данными о неблагоприятном клиническом течении рака с базально-клеточным фенотипом (аналогично «подобный плоскоклеточному раку») и/или гиперэкспрессией p53. Уровни экспрессии p53 и СК 5/6 (базальноклеточный фенотип) определены путем выполнения иммуногистохимического исследования, используемого в рутинной клинической работе.

Заключение. В подгруппе пациентов, страдающих РМПБМИ с высоким риском прогрессирования, стандартные гистологические факторы прогноза выживаемости не имели статистической значимости. Анализ молекулярно-биологических характеристик опухоли выявил независимое прогностическое значение двух признаков: позитивной ядерной реакции с антителами к p53 и/или позитивной цитоплазматической реакции с антителами к СК 5/6 не менее чем в 50 % клеток опухоли. Пятилетняя выживаемость без прогрессирования у пациентов, у которых отмечались дополнительные негативные факторы прогноза, составила 57,3 % (95 % ДИ 41,8–65,2), в группе лиц, не имеющих указанных факторов, – 83,7 % (95 % ДИ 77,2–87,0) ($p < 0,0001$). Отношение рисков прогрессирования при наличии неблагоприятных факторов составило 3,97 (95 % ДИ 2,25–7,01).

При определении тактики лечения пациентов, страдающих РМПБМИ с высоким риском прогрессирования, следует учитывать дополнительные факторы негативного прогноза и рассматривать возможность выполнения ранней цистэктомии, если в их опухоли определена гиперэкспрессия p53 и СК 5/6.

Список использованной литературы

1. Статистика онкологических заболеваний / А. Е. Океанов [и др.]; под ред. О. Г. Суконого. – Минск: РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова, 2014. – С. 171–177.
2. Recurrence and progression of disease in non-muscle-invasive bladder cancer: from epidemiology to treatment strategy / Bas W. G. van Rhijn [et al.] // *Eur. Urol.* – 2009. – Vol. 56, N 3. – P. 430–442.
3. Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials / Richard J. Sylvester [et al.] // *Eur. Urol.* – 2006. – Vol. 49, N 3. – P. 466–477.
4. The health economics of bladder cancer: a comprehensive review of the published literature / M. F. Botteman [et al.] // *Pharmacoeconomics.* – 2003. – Vol. 21, N 18. – P. 1315–1330.
5. Economic aspects of bladder cancer: what are the benefits and costs? / K. D. Sievert [et al.] // *World J. Urol.* – 2009. – Vol. 27, N 3. – P. 295–300.
6. Long-term cancer-specific survival in patients with high-risk, non-muscle-invasive bladder cancer and tumour progression: a systematic review / S. van den Bosch [et al.] // *Eur. Urol.* – 2011. – Vol. 60, N 3. – P. 493–500.
7. High-risk nonmuscle invasive bladder cancer / A. Orsola [et al.] // *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* – 2015. – Vol. 29, N 2. – P. 227–236.
8. Does early cystectomy improve the survival of patients with high risk superficial bladder tumors? / H. W. Herr [et al.] // *J. Urol.* – 2001. – Vol. 166, N 4. – P. 1296–1299.
9. Prognostic factors in patients with non-muscle-invasive bladder cancer treated with bacillus Calmette- Guérin: multivariate analysis of data from four randomized CUETO trials / J. Fernandez-Gomez [et al.] // *Eur. Urol.* – 2008. – Vol. 53, N 5. – P. 992–1002.
10. *Mostofi, F. K.* Histological typing of urinary bladder tumours. International Histological Classification of Tumors / F. K. Mostofi, L. H. Sobin, H. Torloni. – Geneva: World Health Organization, 1973. – Vol. 10.
11. *Eble, J. N.* World Health Organization classification of tumours: pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs / J. N. Eble. – Lyon: IARC Press, 2004.
12. Diagnostic algorithm for papillary urothelial tumors in the urinary bladder / Jung-Weon Shim [et al.] // *Virchows Arch.* – 2008. – Vol. 452. – P. 353–362.
13. Histologic grading of urothelial carcinoma: a reappraisal / L. Cheng [et al.] // *Human Pathol.* – 2012. – Vol. 43. – P. 2097–2108.
14. An Approach to the Diagnosis of Flat Intraepithelial Lesions of the Urinary Bladder Using the World Health Organization International Society of Urological Pathology Consensus Classification System / Mahul B. Amin [et al.] // *Advances in Anatomic Pathol.* – 2002. – Vol. 9. – P. 222–232.

15. A New and Highly Prognostic System to Discern T1 Bladder Cancer Substage / Bas W. G. van Rhijn [et al.] // Eur. Urol. – 2012. – Vol. 61, N 6. – P. 378–384.
16. Prognostic factors and risk groups in T1G3 non-muscle-invasive bladder cancer patients initially treated with Bacillus Calmette-Guérin: results of a retrospective multicenter study of 2451 patients / P. Gontero [et al.] // Eur. Urol. – 2015. – Vol. 67, N 1. – P. 74–82.
17. Improving selection criteria for early cystectomy in high-grade T1 bladder cancer: a meta-analysis of 15,215 patients / W. Martin-Doyle [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2015. – Vol. 33, N 6. – P. 643–650.
18. Prognostic factors and outcome in patients with T1 high-grade bladder cancer: can we identify patients for early cystectomy? / R. Segal [et al.] // BJU Int. – 2012. – Vol. 109, N 7. – P. 1026–1030.
19. Reexamining treatment of high-grade T1 bladder cancer according to depth of lamina propria invasion: a prospective trial of 200 patients / A. Orsola [et al.] // Br. J. Cancer. – 2015. – Vol. 112, N 3. – P. 468–474.
20. The p53 pathway and outcome among patients with T1G3 bladder tumors / E. Lopez-Knowles [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2006. – Vol. 12, N 15. – P. 6029–6036.
21. Prognostic value of p53 for high risk superficial bladder cancer with long-term follow up / P. M. Moonen [et al.] // J. Urol. – 2007. – Vol. 177, N 1. – P. 80–83.
22. P53 as a prognostic marker for bladder cancer: a meta-analysis and review / N. Malats [et al.] // Lancet Oncol. – 2005. – Vol. 6, N 9. – P. 678–686.
23. P53 immunohistochemistry in bladder cancer: a new approach to an old question / P. J. Goebell [et al.] // Urol. Oncol. – 2010. – Vol. 28, N 4. – P. 377–388.
24. Biomarkers for bladder cancer management: present and future // Fei Ye [et al.] // Am. J. Clin. Exp. Urol. – 2014. – Vol. 2, N 1. – P. 1–14.
25. A molecular taxonomy for urothelial carcinoma / G. Sjobahl [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2012. – Vol. 18, N 12. – P. 3377–3386.
26. A Molecular Pathologic Framework for Risk Stratification of Stage T1 Urothelial Carcinoma // O. Patschan [et al.] // Eur. Urol. – 2015. – Vol. 68, N 5. – P. 833–834.
27. Three differentiation states risk-stratify bladder cancer into distinct subtypes / J. P. Volkmer [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2012. – Vol. 109, N 6. – P. 2078–2083.
28. Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy / W. Choi [et al.] // Cancer Cell. – 2014. – Vol. 25, N 2. – P. 152–165.

Поступила в редакцию 17.03.2016

УДК 616.98:578.825.13-07/-08(047.31)(476)

*А. Е. ГОНЧАРОВ¹, Г. М. ДАВИДОВИЧ², И. А. КАРПОВ², Е. В. ДУЖ¹,
И. В. РОМАНОВА¹, Л. П. ТИТОВ¹*

ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ, МОНОЦИТЫ И МИЕЛОИДНЫЕ СУПРЕССОРНЫЕ КЛЕТКИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРОЙ ВЭБ-ИНФЕКЦИЕЙ

¹*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь,
e-mail: andrei.hancharou@gmail.com*

²*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь*

В данной работе выполнено исследование абсолютного и относительного содержания следующих минорных субпопуляций лейкоцитов: CD1c⁺ и CD141⁺ миелоидных дендритных клеток, CD14⁺/CD16⁺ моноцитов крови, моноцитарных и гранулоцитарных (CD15⁺ и CD33⁺) миелоидных супрессорных клеток у 33 пациентов с инфекционным мононуклеозом (ИМ) в сравнении со здоровыми добровольцами. У пациентов с ИМ выявлено статистически значимое перераспределение субпопуляций миелоидных дендритных клеток с увеличением содержания CD141⁺ клеток, что указывает на их роль в иммунопатогенезе болезни. Установлено снижение абсолютного содержания плазматочных дендритных клеток, что свидетельствует о их миграции в лимфоидные ткани или о селективной гибели. Содержание CD15⁺ миелоидных супрессорных клеток было увеличено, что ослабляет возможности противовирусного иммунитета и в то же время, вероятно, предотвращает чрезмерную пролиферацию Т-клеток. Выявленное снижение содержания миелоидных супрессорных клеток моноцитарного происхождения свидетельствует о ВЭБ-индуцированной гиперактивации иммунитета. Таким образом, показано, что у пациентов с ИМ имеются разноплановые изменения в содержании минорных субпопуляций лейкоцитов, что указывает на выраженный дисбаланс между про- и противовоспалительными факторами иммунитета.

Ключевые слова: инфекционный мононуклеоз, дендритные клетки, миелоидные супрессорные клетки, моноциты.

A. Y. HANCHAROU, G. M. DAVIDOVICH, I. A. KARPAU, A. V. DUZH, I. U. RAMANAVA, L. P. TITOV

PERIPHERAL BLOOD DENDRITIC CELLS, MONOCYTES, MYELOID-DERIVED SUPPRESSOR CELLS IN PATIENTS WITH ACUTE EBV-INFECTIO

In the current investigation the relative and absolute count of minor leukocyte subsets was assayed: CD1c⁺ and CD141⁺ myeloid dendritic cells, CD14⁺/CD16⁺ blood monocytes, monocytic and granulocytic (CD15⁺ and CD33⁺) myeloid-derived suppressor cells in 33 patients with infectious mononucleosis compared with healthy controls. In patients with infectious mononucleosis the statistically significant myeloid dendritic cell subset redistribution was determined with the increase of CD141⁺ cells, indicative of its role in the immunopathogenesis of the disease. The decrease of the plasmacytoid dendritic cell count in patients with mononucleosis was observed, suggesting the migration to the lymphoid tissue or the selective depletion. The CD15⁺ myeloid suppressor cells count was increased, which decreased the antiviral immunity and at the same time, possibly prevented an excessive T-cell proliferation. The monocytic myeloid-derived suppressor cell count was reduced, explaining the EBV-induced immune system hyperstimulation. Thus it was established that patients with infectious mononucleosis exhibited diverse changes in the content of the minor leukocyte subsets, thus indicating a marked imbalance between pro- and anti-inflammatory immunity factors.

Keywords: infectious mononucleosis, dendritic cells, myeloid suppressor cells, monocytes.

Введение. В последние годы в генезе как инфекционной, так и соматической патологии все большее значение приобретают герпесвирусы. Они занимают одно из ведущих мест в связи с широким распространением, многообразием клинических проявлений и различными путями передачи [1–4]. По данным многочисленных исследований, вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) является достаточно распространенным герпесвирусом [1, 3–4]. Возраст инфицирования зависит от социально-экономических условий, урбанизации, скученности населения. В развитых странах инфицирование людей наблюдается в более раннем возрасте, а распространенность инфекции выше, чем в развивающихся странах [2]. Установлено, что клиника инфекции, вызванной ВЭБ, у взрослых

характеризуется наличием симптомов интоксикации, лимфаденопатии, гепатоспленомегалии, тонзиллита, аденоидита, у ряда пациентов – наличием интерстициальной пневмонии, увеита, гепатита, патологии ЦНС [2–4]. Клиническая значимость инфекционного мононуклеоза (ИМ) обусловлена вовлечением в патологический процесс иммунной, сердечно-сосудистой, пищеварительной, мочевыделительной, нервной и эндокринной систем. Хронизация ВЭБ может привести к неблагоприятным последствиям в виде X-связанного лимфопролиферативного синдрома, В-лимфопролиферативных заболеваний, синдрома хронической усталости, ВЭБ-ассоциированного гемофагоцитарного синдрома и ряда других заболеваний [1–6]. В Беларуси маркеры латентной ВЭБ-инфекции выявлены у 48,9 % населения [5].

ВЭБ по основным свойствам схож с другими герпес-вирусами. Известно, что ВЭБ обладает тропностью к В-лимфоцитам, репродуцируется в них, вызывает повреждение механизма апоптоза в В-лимфоцитах и активацию других иммунокомпетентных клеток, вследствие чего способен приводить к значительным нарушениям в иммунном статусе человека: изменение количества и свойств отдельных популяций лимфоцитов и гранулоцитов, нарушение функции моноцитов, дисбаланс продукции цитокинов. В результате развивается вторичная иммунная недостаточность с выраженной депрессией клеточного иммунитета. В то же время сведения о роли антигенпредставляющих клеток (АПК) в иммунопатогенезе ИМ довольно противоречивы [6–13], а исследования, посвященные оценке содержания миелоидных супрессорных клеток (МЛСК) гранулоцитарного (Г-МЛСК) или моноцитарного (М-МЛСК) происхождения при ИМ не проводились.

Цель работы – изучить в динамике содержание субпопуляций дендритных клеток, моноцитов и миелоидных супрессорных клеток у пациентов с инфекционным мононуклеозом.

Объекты и методы исследований. *Объектами* для *in vitro* исследования служили 66 образцов венозной крови 33 пациентов с ИМ (Городская клиническая инфекционная больница г. Минска). Медианный возраст пациентов составил 20,0 (19,0–25,0) года (у женщин – 19,0 (18,0–20,0) года, у мужчин – 22,5 (19,0–25,5) года). С целью уточнения диагноза исследованы маркеры ВЭБ-инфекции методом латекс-агглютинации (ЛА), ПЦР (качественная ПЦР для детекции ВЭБ в плазме крови) и выполнено определение специфических IgM к капсидному антигену ВЭБ методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем. Терапию пациентов проводили в соответствии с утвержденными протоколами лечения. Пациентов обследовали дважды: на момент поступления в стационар (группа П1) и спустя 2–3 мес. после выписки (группа П2). Для получения референсных значений ряда показателей использовали 22 образца донорской крови. Кроме того, в расчетах в качестве референсных (контрольная группа, К) использовали ранее полученные показатели иммунного статуса 24 доноров и здоровых добровольцев (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии), сопоставимых по возрасту и полу с пациентами.

Проточная цитометрия. Иммунофенотип клеток крови определяли методом проточной цитометрии. Исследуемый образец крови в количестве 100 мкл инкубировали с соответствующими моноклональными антителами на протяжении 15 мин при температуре 4 °С. Использовали следующие панели антител: 1) lin (CD3, CD19, CD20, CD16, CD56, CD14) – FITC (ExBio, Чехия); CD141 (BDCA-3) – PE, клон 1A4 (BD, США); CD45 – PerCP, клон HI40a (BioLegend, США); CD11c – PE-Cy7, клон B-ly6 (BD, США); CD16 – BV421, клон 3G8 (BD, США); HLA-DR – V500, клон G46-6 (BD, США); CD1c (BDCA-1) – APC, клон AD5-8E7 (Miltenyi Biotec, ФРГ); CD14 – APC-Cy7, клон MφP9 (BD, США); 2) CD123 – PE, клон SSDCLY107D2 (Beckman Coulter, США); HLA-DR – PE-Cy7, клон Immu-357 (Beckman Coulter, США); 3) CD11b – APC, клон MEM-174 (ExBio, Чехия), CD15 – PE, клон MEM-158 (ExBio, Чехия), CD33 – PerCP-Cy5.5, клон WM53 (ExBio, Чехия), HLA-DR – V500, клон G46-6 (BD, США). Для корректной настройки параметров компенсации для каждой группы образцов готовили single-stained контроли. Лизировали эритроциты раствором хлорида аммония на протяжении 15 мин при температуре 18–25 °С. Затем клетки осаждали путем центрифугирования в течение 5 мин, удаляли супернатант и суспендировали клетки в 300 мкл DPBS. Учет проводили на проточном цитометре FACSCanto II. В каждом образце подсчитывали не менее $2 \cdot 10^6$ клеток. Данные анализировали при помощи программы FACSDiva версии 7 [14].

Статистический анализ. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программ Statistica версии 10 (StatSoft, США) [15]. Значения показателей представлены

преимущественно в виде Me (25–75), где Me – медиана, а 25 и 75 – интерквартильный размах в виде 25-й и 75-й перцентилей. Для сравнения групп данных и изучения корреляционных взаимосвязей использовали непараметрические методы. Для сравнения двух независимых выборок применяли *U*-критерий Манна–Уитни, а для сравнения связанных выборок – тест Уилкоксона. В качестве критерия достоверности различий показателей принимали уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Содержание дендритных клеток. Дендритные клетки (ДК) крови – антигенпредставляющие клетки, обеспечивающие инициацию и направленность адаптивного иммунного ответа. ДК человека по происхождению разделяют на две группы: миелоидные ДК (мДК), имеющие миелоидное происхождение, и плазмацитоидные ДК (пДК), дифференцированные из лимфоидных клеток-предшественников [16, 17]. По экспрессии ряда молекул и выполняемым ими функциям можно выделить множество субпопуляций ДК. Так, мДК крови разделяют на две крупные субпопуляции: DC1, экспрессирующие молекулу CD1c – BDCA-1, и DC2 ДК, которые экспрессируют молекулу CD141 (BDCA-3) и функционально схожи с CD8⁺ ДК мышей [16, 17]. Выполняемые ДК функции захвата антигена и его представления на мембране Т-клеток обуславливают широкий спектр поверхностных молекул, к которым относят паттерн-распознающие рецепторы, молекулы ГКС II класса, костимуляторные и коингибиторные молекулы, молекулы клеточной адгезии, хемокиновые рецепторы. Ранее выполненные исследования в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии показали важную роль ДК в иммунопатогенезе инфекционных и иммунных заболеваний [18–20].

Нами разработана следующая стратегия гейтирования ДК: вначале исключали на цитограмме FSC-Area/FSC-Height конгломераты из учета, затем визуально формировали регион CD45⁺ лейкоцитов, в котором последовательно определяли границы региона мононуклеарных клеток (рис. 1). В полученном регионе анализировали экспрессию молекулы HLA-DR и популяционных (lineage) маркеров: CD3, CD14, CD16, CD19, CD20 и CD56. Учитывая, что ДК экспрессируют молекулы комплекса гистосовместимости II класса при отсутствии экспрессии маркеров других клеточных популяций, выделяли соответствующим образом регион, содержащий ДК (lin⁻HLA-DR⁺). В данном регионе анализировали экспрессию молекулы CD11c – основного маркера мДК. Подсчитывали относительное число CD11c⁺ мДК среди лейкоцитов. Далее в регионе HLA-DR⁺lin⁻ учитывали число клеток, экспрессирующих молекулы CD11c и CD1c, а также CD11c⁺CD141^{hi} клеток [21, 22].

Исследования показали, что у пациентов с ИМ относительное содержание CD11c⁺ мДК снижено в 2 раза в сравнении с таковым в группе здоровых добровольцев ($p = 0,0001$), а абсолютное их число также ниже контрольных значений ($p = 0,037$) (см. таблицу). При этом относительное и абсолютное содержание CD1c⁺ субпопуляции ДК было уменьшено ($p = 0,001$ и $p = 0,01$ соответственно).

Содержание субпопуляций моноцитов, ДК и МЛСК в периферической крови пациентов с ИМ

Субпопуляция клеток	Группа			Уровень значимости (p)		
	Здоровые добровольцы (К), $n = 22-24$	Пациенты с ИМ до терапии (П1), $n = 33$	Пациенты с ИМ после терапии (П2), $n = 33$	П1 vs К ^A	П1 vs К ^A	П1 vs П2 [*]
«Классические» моноциты: % от числа моноцитов $\times 10^6/\text{мл}$	86,3 (82,4–88,4) 0,368 (0,298–0,429)	88,0 (84,5–93,0) 0,496 (0,286–0,61)	85,4 (83,2–91,0) 0,352 (0,247–0,484)	0,1 0,295	0,743 0,864	0,36 0,17
«Промежуточные» моноциты: % от числа моноцитов $\times 10^6/\text{мл}$	3,4 (1,9–5,4) 0,016 (0,006–0,022)	5,65 (3,4–8,26) 0,024 (0,016–0,042)	5,5 (3,7–10,64) 0,025 (0,016–0,042)	0,028 0,02	0,047 0,047	0,94 0,36
«Неклассические» моноциты: % от числа моноцитов $\times 10^6/\text{мл}$	5,1 (0,9–7,0) 0,023 (0,003–0,030)	1,78 (0,85–3,26) 0,01 (0,005–0,01)	3,04 (1,85–4,42) 0,013 (0,008–0,022)	0,022 0,034	0,463 0,628	0,07 0,1
CD11c ⁺ мДК: % от числа лейкоцитов $\times 10^6/\text{мл}$	0,255 (0,224–0,360) 0,016 (0,012–0,021)	0,13 (0,093–0,24) 0,013 (0,006–0,02)	0,225 (0,165–0,352) 0,015 (0,009–0,02)	0,0001 0,037	0,263 0,265	0,002 0,66
CD1c ⁺ мДК: % от числа лейкоцитов $\times 10^6/\text{мл}$	0,142 (0,106–0,156) 0,009 (0,006–0,012)	0,052 (0,028–0,09) 0,004 (0,003–0,01)	0,122 (0,081–0,167) 0,006 (0,004–0,011)	0,001 0,01	0,563 0,281	0,001 0,053

Субпопуляция клеток	Группа			Уровень значимости (<i>p</i>)		
	Здоровые добровольцы (К), <i>n</i> = 22–24	Пациенты с ИМ до терапии (П1), <i>n</i> = 33	Пациенты с ИМ после терапии (П1), <i>n</i> = 33	П1 vs К ^Δ	П1 vs К ^Δ	П1 vs П2*
CD141 ⁺ мДК: % от числа лейкоцитов ×10 ⁶ /мл	0,021 (0,018–0,026) 0,001 (0,001–0,002)	0,017 (0,007–0,02) 0,001 (0,0004–0,002)	0,014 (0,009–0,037) 0,001 (0,0005–0,002)	0,162 0,879	0,267 0,325	0,25 0,91
пДК: % от числа лейкоцитов ×10 ⁶ /мл	0,400 (0,250–0,520) 0,022 (0,013–0,032)	0,056 (0,02–0,1) 0,004 (0,002–0,01)	0,195 (0,14–0,34) 0,01 (0,008–0,02)	1,3·10 ⁻¹⁰ 3·10 ⁻⁹	0,0002 0,0002	3·10 ⁻⁶ 0,00003
CD15 ⁺ МЛСК: % от числа лейкоцитов ×10 ⁶ /мл	0,022 (0,007–0,048) 0,001 (0,001–0,004)	0,042 (0,019–0,079) 0,003 (0,001–0,005)	0,165 (0,112–0,320) 0,011 (0,006–0,016)	0,03 0,04	0,0004 0,001	0,00008 0,003
CD33 ⁺ МЛСК: % от числа лейкоцитов ×10 ⁶ /мл	0,051 (0,017–0,081) 0,003 (0,001–0,006)	0,046 (0,022–0,085) 0,004 (0,001–0,006)	0,056 (0,026–0,146) 0,004 (0,001–0,009)	0,90 0,71	0,39 0,57	0,48 0,94
М-МЛСК: % от числа лейкоцитов ×10 ⁶ /мл	0,32 (0,23–0,37) 0,018 (0,016–0,026)	0,09 (0,05–0,17) 0,007 (0,005–0,015)	0,23 (0,15–0,45) 0,013 (0,008–0,026)	0,004 0,007	0,472 0,325	0,02 0,12

Примечание. * – тест Вилкоксона; ^Δ – тест Манна–Уитни.

В то же время содержание CD141⁺ мДК у пациентов с ИМ в сравнении со здоровыми добровольцами достоверно не отличалось ($p > 0,05$). В результате соотношение CD1c⁺ мДК/CD141⁺ мДК составило 3,9 (1,9–7,6) у пациентов с ИМ и 6,2 (5,6–7,3) в группе здоровых добровольцев ($p = 0,02$). Принимая во внимание результаты расчета данного соотношения, можно сделать вывод о том, что у пациентов с ИМ имеет место перераспределение BDCA-1 и BDCA-3 субпопуляций в сторону клеток с фенотипом BDCA-3. Данное наблюдение, по всей видимости, подтверждает ранее установленный факт вовлеченности CD141⁺ субпопуляции ДК в презентацию вирусных антигенов после поглощения фрагментов мертвых клеток, содержащих вирусные частицы, и указывает на участие BDCA-3⁺ мДК в иммунном ответе против ВЭБ [23].

Абсолютное и относительное содержание lin⁻CD123⁺HLA-DR⁺ пДК у пациентов с ИМ было ниже (в 5 и 7 раз соответственно) по сравнению с аналогичными показателями в группе здоровых добровольцев, что, очевидно, указывает на вовлеченность пДК в иммунопатогенез ИМ. Поскольку пДК являются основной интерферон(ИНФ)- α -продуцирующей популяцией клеток крови, уменьшение их числа может являться одной из причин неадекватного иммунного ответа на вирус и, как следствие, хронизации или затяжного течения заболевания. Наше исследование, таким образом, объясняет факт значительного снижения содержания ИНФ- α у пациентов с ИМ, показанное в ряде исследований [24].

Несмотря на то что содержание всех субпопуляций мДК в период реконвалесценции (3 мес.) пришло в норму почти у всех пациентов, содержание пДК хотя и было выше, чем у пациентов в острый период, все равно не достигало показателей здоровых добровольцев (у здоровых добровольцев – 0,400 (0,250–0,520) %, у пациентов в острый период – 0,056 (0,02–0,1), у пациентов в период реконвалесценции – 0,195 (0,14–0,34) %).

Моноциты. Известно, что моноциты крови не являются однородной популяцией клеток. Так, по степени экспрессии молекул CD14 и CD16 охарактеризованы три основные субпопуляции: CD14⁺⁺CD16⁻ – «классические» моноциты, CD14⁺⁺CD16⁺ – «промежуточные» моноциты и CD14⁺CD16⁺⁺ – «неклассические» моноциты [25, 26]. «Классические» моноциты характеризуются высокой фагоцитарной активностью, высокой экспрессией рецепторов лектинового типа, выполняют антиапоптотическую функцию. «Неклассические» моноциты, в отличие от «классических», выполняют проапоптотическую и регуляторную функции. «Промежуточные» моноциты отличаются высокой продукцией ROS, способностью стимулировать пролиферацию Т-клеток, ангиогенез (Tie-2⁺). В процессе жизненного цикла «классические» моноциты, по всей видимости, дифференцируются в «промежуточные» и «неклассические». В настоящее время активно дискутируется роль «промежуточных» и «неклассических» моноцитов при различных патологических состояниях [25, 26].

Анализ моноцитов включал последовательное гейтирование лейкоцитов, мононуклеаров, а затем моноцитов, с помощью которого анализировалась интенсивность экспрессии молекул CD14 и CD16 (рис. 1). Проведен расчет процентного содержания данных субпопуляций от числа всех CD14⁺ моноцитов крови (см. таблицу) [27].

У пациентов с ИМ выявлено статистически достоверное увеличение содержания промежуточных форм моноцитов (абсолютные и относительные значения). В то же время относительное содержание числа «неклассических» моноцитов было достоверно снижено.

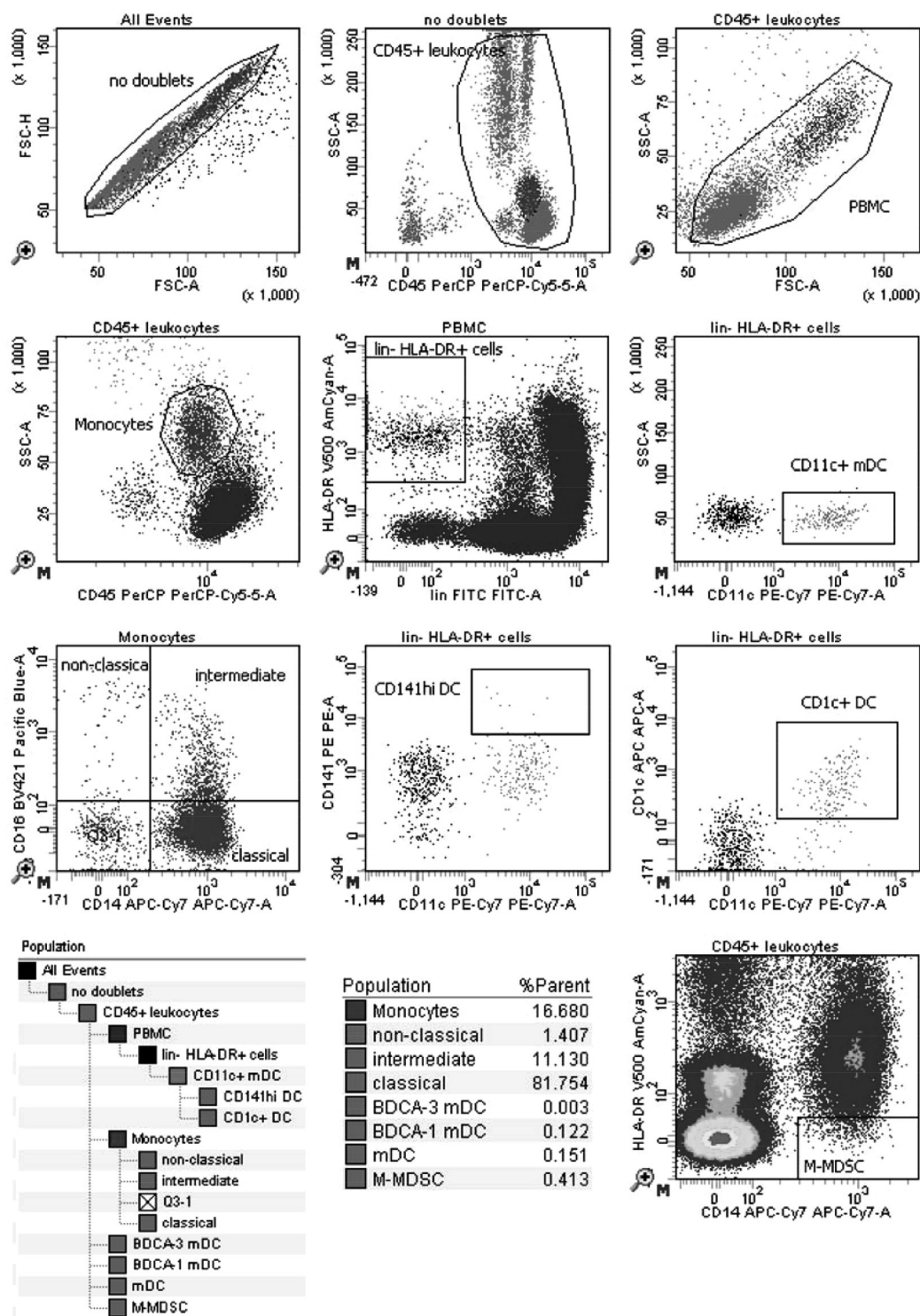


Рис. 1. Гейтирование мДК и моноцитов

Известно, что промежуточные формы моноцитов характеризуются высокой продукцией свободных радикалов кислорода, способностью к активной стимуляции пролиферации Т-клеток. «Неклассические» же моноциты выполняют преимущественно регуляторную функцию, в том числе инициируя апоптоз иммунокомпетентных клеток. Увеличение числа промежуточных и снижение содержания неклассических форм моноцитов у пациентов с ИМ указывает на нарушенный баланс между субпопуляциями, способствующий усилению пролиферации Т-клеток. Следует отметить, что среднегрупповое содержание промежуточных форм моноцитов сохранялось и в период реконвалесценции.

Содержание МЛСК. МЛСК представляют собой крайне гетерогенную популяцию активированных незрелых клеток миелоидного происхождения, которая обладает способностью подавлять эффекторный иммунный ответ. Известно, что МЛСК человека имеют моноцитарное либо гранулоцитарное происхождение. Г-МЛСК являются незрелыми миелоидными клетками, не несущими популяционных маркеров зрелых гранулоцитов и молекул II класса ГКС, но экспрессирующими молекулы CD11b, CD33 и/или CD15 [28, 29]. М-МЛСК характеризуются отсутствием либо значительным снижением экспрессии молекулы HLA-DR (CD14⁺HLA-DR^{lo/neg}), т. е. представляют собой моноциты, по каким-то причинам утратившие молекулы ГКС.

В то же время ряд авторов под МЛСК человека понимают CD33⁺HLA-DR⁻ клетки, под Г-МЛСК – CD66b⁺/CD33^{int}/HLA-DR⁻, CD11b⁺VEGFR1⁺CD66b⁺, CD62L^{lo/neg}CD16^{lo/neg}, CD33⁺HLADR^{low} NIF1α⁺/STAT3⁺ или CD11b⁺HLA-DR^{low}C/EBPβ⁺ клетки, а под М-МЛСК – CD33⁺/CD14⁺/HLA-DR^{low}, причем этот список можно было бы существенно пополнить. Тем не менее, ни один из предложенных вариантов до сих пор не получил широкого распространения, и, несмотря на многочисленные исследования, популяция МЛСК продолжает оставаться относительно слабо охарактеризованной.

МЛСК весьма эффективно подавляют иммунный ответ, уменьшая число антиген-специфических Т-клеток. К настоящему времени накоплена информация о роли МЛСК в иммунопатогенезе онкозаболеваний. Показано значительное увеличение доли МЛСК у пациентов со злокачественными новообразованиями разной локализации, преимущественно на поздних стадиях болезни. Учитывая выявленную способность МЛСК подавлять пролиферацию и вызывать анергию Т-клеток, в том числе CD8⁺ лимфоцитов, стимулировать формирование Т-регуляторных клеток, ингибировать функциональную активность АПК, было высказано предположение, что МЛСК играют важную роль в хронизации вирусных инфекций. Так, в ряде работ дискутируется роль Г-МЛСК в патогенезе хронического гепатита С.

Использованная нами стратегия гейтирования Г-МЛСК включала следующие последовательные действия: 1) на точечной цитограмме, построенной в координатах FSC-Area и FSC-Height, выделяли регион, не содержащий клеточные конгломераты; 2) в полученном регионе на цитограмме светорассеяния отграничивали регион нейтрофилов; 3) выделяли регион клеток, не экспрессирующих HLA-DR и популяционные маркеры; 4) клетки из данного региона проецировали на цитограммы в координатах CD11b/CD15 и CD11b/CD33. Г-МЛСК определяли как клетки, коэкспрессирующие два маркера: CD11b⁺CD15⁺ и CD11b⁺CD33⁺ (рис. 2).

Результаты исследований показывают, что у пациентов с ИМ в периферической крови имеется значительное количество МЛСК гранулоцитарного происхождения (см. таблицу).

Известно, что у всех пациентов, страдающих ИМ, выявляют относительную или абсолютную гранулоцитопению. Несмотря на это, показано, что у пациентов с ИМ как в острый период, так и в период реконвалесценции статистически достоверно увеличено абсолютное и относительное содержание CD15⁺ Г-МЛСК ($p < 0,03$). Причем у реконвалесцентов относительное содержание Г-МЛСК достоверно выше, чем у пациентов в период разгара болезни ($p < 0,003$).

Поскольку МЛСК оказывают иммуносупрессивное действие, увеличение их содержания в крови, с одной стороны, ослабляет противовирусный иммунитет, с другой – вероятно, предотвращает чрезмерную пролиферацию Т-клеток.

Исследование содержания CD33⁺ Г-МЛСК показало отсутствие достоверных различий между пациентами на разных стадиях заболевания и здоровыми добровольцами, а также между пациентами в периодах разгара заболевания и реконвалесценции.

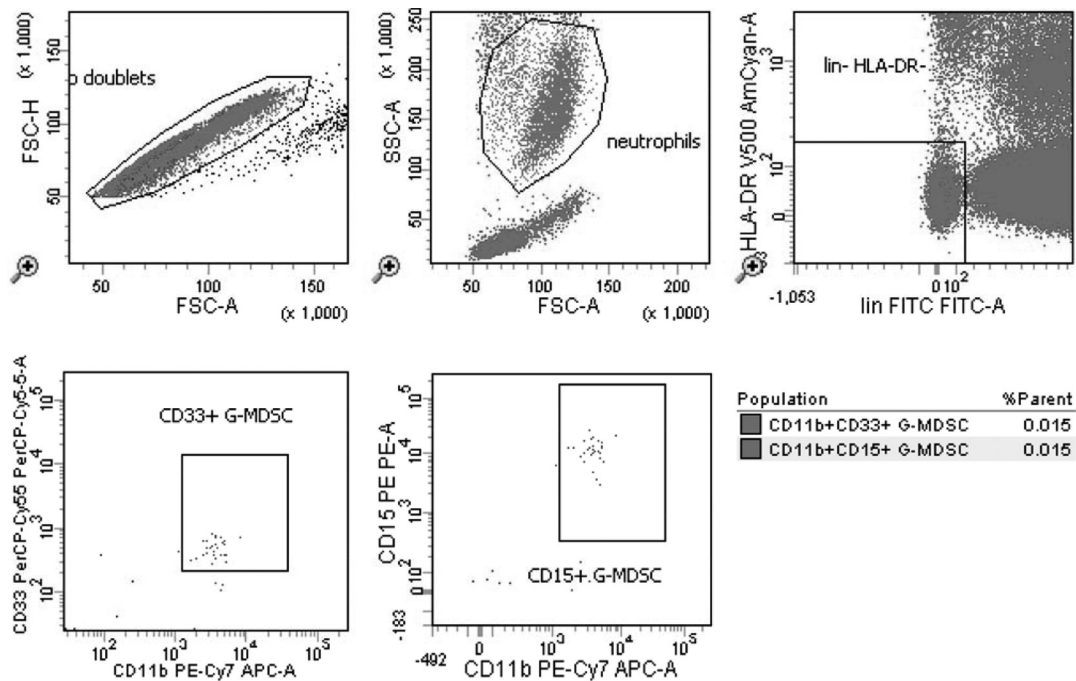


Рис. 2. Гейтирование Г-МЛСК

Отметим, что количественные показатели Г-МЛСК, полученные в настоящем исследовании, значительно ниже, чем приведенные в некоторых работах. Ответ на данный вопрос заключается, как мы считаем, в стратегии гейтирования. Как показывает опыт, в процессе анализа Г-МЛСК следует выделять только регион гранулоцитов. В ряде работ авторы выполняли поиск Г-МЛСК среди всех лейкоцитов, включая мононуклеарные клетки [28, 29]. На наш взгляд, такой подход к гейтированию не корректен, так как не позволяет исключить из подсчета базофилы – клетки с небольшими размерами и гранулярностью (FSC^{lo} , SSC^{lo}), не экспрессирующие HLA-DR и популяционные маркеры CD3, CD14, CD19, слабо экспрессирующие молекулу CD16 и характеризующиеся высокой экспрессией миелоидных маркеров – CD11b, CD15 и особенно CD33. Таким образом, содержание Г-МЛСК в некоторых исследованиях завышено за счет включения базофилов.

Следует отметить, что существенная вариабельность данных затрудняет статистическую обработку. Так, например, число $CD15^+$ Г-МЛСК колебалось от 0,01 до 0,596 % в группе пациентов с ИМ и от 0,004 до 0,167 % в контроле. Что касается количества $CD33^+$ Г-МЛСК, то минимальное их содержание у пациентов, страдающих ИМ, составило 0,02 %, а максимальное – 0,238 %; в группе сравнения минимальное значение – 0,012 %, максимальное – 0,192 %, т. е. значения показателя отличаются в 12–16 раз.

Нами также установлено снижение в 3 раза содержания М-МЛСК у пациентов с ИМ по сравнению с контрольной группой ($p < 0,004$), что указывает на ВЭБ-индуцированную гиперстимуляцию клеток иммунной системы и существенное усиление экспрессии молекулы HLA-DR как на АПК, так и на Т-клетках (см. таблицу).

К периоду реконвалесценции медианные значения абсолютного содержания М-МЛСК у пациентов с ИМ не отличались достоверно от таковых у здоровых добровольцев ($p = 0,12$), а относительного были несколько ниже контрольных значений ($p = 0,02$). Таким образом, наряду с определением HLA-DR⁺ Т-лимфоцитов содержание М-МЛСК может являться одним из важных критериев для определения активации иммунной системы.

Заключение. Выполнено иммунологическое и клинико-лабораторное обследование в динамике 33 взрослых пациентов с острой ВЭБ-инфекцией (ИМ), которые находились на стационарном лечении в УЗ «Городская клиническая инфекционная больница» (г. Минск).

У пациентов с ИМ выявлен комплекс разноплановых изменений в содержании минорных субпопуляций лейкоцитов, что указывает на выраженный дисбаланс между про- и противовоспалительными факторами иммунитета.

Установлено уменьшение числа мДК с фенотипом CD11c⁺ и CD1c⁺, что предполагает снижение антигенпредставляющих возможностей иммунитета. Показано 7-кратное уменьшение содержания пДК – основных продуцентов интерферона-α в периферической крови, что может являться одной из причин неадекватного иммунного ответа на вирус и, как следствие, хронизации или затяжного течения заболевания.

В периферической крови пациентов с ИМ выявлено значительное количество CD15⁺ МЛСК гранулоцитарного происхождения, что, с одной стороны, ослабляет противовирусный иммунитет, с другой – вероятно, предотвращает чрезмерную пролиферацию Т-клеток. Также установлено снижение содержания моноцитарных МЛСК, что свидетельствует о гиперактивации иммунитета ВЭБ.

Таким образом, результаты исследования указывают на существенные изменения в содержании субпопуляций МЛСК, моноцитов и ДК у пациентов с ИМ и требуют дальнейших исследований для установления роли этих субпопуляций в этиопатогенезе болезни и возможности использования количественных показателей в клинической практике.

Список использованной литературы

1. Reliability of the Siemens Enzygnost and Novagnost Epstein–Barr Virus assays for routine laboratory diagnosis: agreement with clinical diagnosis and comparison with the Merifluor Epstein–Barr Virus immunofluorescence assay [Электронный ресурс] / С. Kreuzer [et al.] // BMC Infect. Dis. – 2013. – Vol. 13, N 260. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3679805>. – Дата доступа: 24.01.2016.
2. Epstein–Barr virus: the impact of scientific advances on clinical practice / Н. Williams [et al.] // Blood. – 2006. – Vol. 107, N 3. – P. 862–869.
3. *Luzuriaga, K.* Infectious Mononucleosis / K. Luzuriaga, J. L. Sullivan // N. Engl. J. Med. – 2010. – Vol. 362, N 21. – P. 1993–2000.
4. *Drăghici, S.* Clinical and paraclinical aspects of infectious mononucleosis [Электронный ресурс] / S. Drăghici, A. Csep // BMC Infect. Dis. – 2013. – Vol. 13, suppl. 1. – Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/13/S1/P65>. – Дата доступа: 24.01.2016.
5. Серологические и эпидемиологические особенности инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр, в Республике Беларусь / Л. П. Титов [и др.] // Вopr. вирусологии. – 1999. – Т. 44, № 1. – С. 21–24.
6. Cellular immune controls over Epstein–Barr virus infection: new lessons from the clinic and the laboratory / A. B. Rickinson [et al.] // Trends Immunol. – 2014. – Vol. 35, N 4. – P. 159–169.
7. Epstein–Barr virus candidate genes and multiple sclerosis / K. C. Simon [et al.] // Multiple Sclerosis and Related Disorders. – 2015. – Vol. 4, N 1. – P. 60–64.
8. Infectious mononucleosis accompanied by clonal proliferation of EBV-infected cells and infection of CD8-positive cells / A. Arai [et al.] // Int. J. Hematol. – 2014. – Vol. 99, N 5. – P. 671–675.
9. *Münz, C.* Role of human natural killer cells during Epstein–Barr virus infection / C. Münz // Crit. Rev. Immunol. – 2014. – Vol. 34, N 6. – P. 501–507.
10. *Taylor, G. S.* The Immunology of Epstein–Barr Virus–Induced Disease / G. S. Taylor // Ann. Rev. Immunol. – 2015. – Vol. 33. – P. 787–821.
11. *Katz, B. Z.* Chronic fatigue syndrome following infections in adolescents / B. Z. Katz // Curr. Opin. Pediatr. – 2013. – Vol. 25, N 1. – P. 95–102.
12. *Lerner, M.* Abortive lytic Epstein–Barr virus replication in tonsil-B lymphocytes in infectious mononucleosis and a subset of the chronic fatigue syndrome / M. Lerner // J. Vir. Adapt. Treatm. – 2012. – Vol. 4. – P. 85–91.
13. *Broderick, G.* Cytokine expression profiles of immune imbalance in post-mononucleosis chronic fatigue / G. Broderick // J. Transl. Med. – 2012. – Vol. 10. – P. 191.
14. BD FACSDiva™ Software [Электронный ресурс]. – 2016. – Режим доступа: <http://wwwbdbiosciences.com/us/instruments/research/software/flow-cytometry-acquisition/bd-facsdiva-software/m/111112>. – Дата доступа: 24.01.2016.
15. *Реброва, О. Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва. – М., 2008. – 312 с.
16. Origin and development of dendritic cells / K. Liu [et al.] // Immunol. Rev. – 2010. – Vol. 234. – P. 45–54.
17. Human dendritic cell deficiency: the missing ID? / M. Collin [et al.] // Nat. Rev. Immunol. – 2011. – Vol. 11. – P. 575–583.
18. Иммунофенотипическая характеристика миелоидных и плазматоидных дендритных клеток пациентов с рассеянным склерозом / А. Е. Гончаров [и др.] // Докл. НАН Беларуси. – 2010. – Т. 54, № 6. – С. 82–88.
19. Иммунофенотип плазматоидных дендритных клеток пациентов с системной красной волчанкой / А. Е. Гончаров [и др.] // Вес. НАН Беларуси. Сер. мед. наук. – 2010. – № 4. – С. 14–19.
20. Состояние системы мононуклеарных фагоцитов (моноцитов, дендритных клеток) у пациентов с разными формами лекарственно-устойчивого туберкулеза легких / А. Е. Гончаров [и др.] // Вес. НАН Беларуси. Сер. мед. наук. – 2012. – № 4. – С. 4–15.

21. Evaluation of a 12-color flow cytometry panel to study lymphocyte, monocyte, and dendritic cell subsets in humans / P. Autissier [et al.] // *Cytometry. Part A.* – 2010. – Vol. 77A. – P. 410–419.
22. An 11-color flow cytometric assay for identifying, phenotyping, and assessing endocytic ability of peripheral blood dendritic cell subsets in a single platform / J. E. Wang [et al.] // *J. Immunol. Meth.* – 2009. – Vol. 341, N 1–2. – P. 106–116.
23. Human CD141+ (BDCA-3)+ dendritic cells (DCs) represent a unique myeloid DC subset that cross-presents necrotic cell antigens / S. L. Jongbloed [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2010. – Vol. 207, N 6. – P. 1247–1260.
24. Behavioral, virologic, and immunologic factors associated with acquisition and severity of primary Epstein–Barr virus infection in university students / H. H. Balfour [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2013. – Vol. 207. – P. 80–88.
25. *Auffray, C.* Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells / *C. Auffray* // *Annu. Rev. Immunol.* – 2009. – Vol. 27. – P. 669–692.
26. *Gordon, S.* Monocyte and macrophage heterogeneity / *S. Gordon, P. R. Taylor* // *Nat. Rev. Immunol.* – 2005. – Vol. 5, N 12. – P. 953–964.
27. Мононуклеарные фагоциты, регуляторные Т-лимфоциты, циркулирующие стволовые и эндотелиальные клетки у пациентов с атеросклеротической аневризмой аорты / Л. П. Титов [и др.] // *Здравоохранение.* – 2016. – № 1. – С. 4–10.
28. *Khaled, Y. S.* Increased levels of granulocytic myeloid-derived suppressor cells in peripheral blood and tumour tissue of pancreatic cancer patients [Электронный ресурс] / *Y. S. Khaled, B. J. Ammori, E. Elkord* // *J. Immunol. Res.* – 2014. – Vol. 2014. – Режим доступа: <http://downloads.hindawi.com/journals/jir/2014/879897.pdf>. – Дата доступа: 24.01.2016.
29. Comparative analysis of monocytic and granulocytic myeloid-derived suppressor cell subsets in patients with gastrointestinal malignancies / *A. Duffy* [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2013. – Vol. 62. – P. 299–307.

Поступила в редакцию 03.02.2016

УДК 616.61-089.843:616.16]-084

Д. Н. САДОВСКИЙ¹, О. В. КАЛАЧИК¹, А. М. НЕРОВНЯ²,
М. В. ДМИТРИЕВА³, Г. М. КАРАПЕТЯН²

КОМПЛЕКСНАЯ ЗАЩИТА ТРАНСПЛАНТАТА ПОЧКИ

¹9-я городская клиническая больница г. Минска, Минск, Беларусь, e-mail: idl4@yandex.ru

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь, e-mail: nam6464@mail.ru

³Городское клиническое патологоанатомическое бюро г. Минска, Минск, Беларусь,
e-mail: mvdmtrieva@inbox.ru

Изучены влияние парентерального применения стрептокиназы при эксплантации органов у умершего донора на начальную функцию почечного трансплантата, а также оптимизация температурного и временного факторов. В клиническом исследовании в группе реципиентов, донорам органов которых назначалась стрептокиназа, снижалось время перфузии органов, проводилось охлаждение афферентной перфузионной магистрали, снижалось число дисфункций трансплантата почки. При гистологическом исследовании дистальных отделов мочеточников трансплантата почки доказано, что стрептокиназа способствует лучшему освобождению микроциркуляторного русла от форменных элементов крови.

Ключевые слова: трансплантация почки, стрептокиназа, отсроченная функция трансплантата, микроциркуляторное русло, форменные элементы крови.

D. N. SADOUSKI¹, A. V. KALACHYK¹, A. M. NEROVNYA², M. V. DMITRIEVA³, R. M. KARAPETSIAN²

COMPREHENSIVE PROTECTION OF KIDNEY GRAFT

¹9th City Clinical Hospital, Minsk, Belarus, e-mail: idl4@yandex.ru

²Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus, e-mail: nam6464@mail.ru

³City Clinical Pathology Bureau, Minsk, Belarus, e-mail: mvdmtrieva@inbox.ru

The aim of this study was to evaluate the effect of parenteral administration of streptokinase during the organ explantation from a cadaveric donor, in combination with the optimization of temperature and time factors of the explantation procedure on the initial function of renal graft. As the result of the clinical trial, in the recipient group, where the streptokinase was administered, the organ perfusion time reduced, the afferent perfusion highway was cooled, and the reduction of kidney transplant dysfunctions was achieved. Streptokinase contributed to a better release of the microvasculature from the blood cells, as evidenced by the histological examination of the distal ureter of kidney graft.

Keywords: kidney transplantation, streptokinase, delayed graft function, microcirculation, blood cells.

Введение. В настоящее время трансплантация почки является единственным радикальным методом лечения пациентов с терминальной стадией хронических болезней почек. Она позволяет значительно улучшить качество и продолжительность жизни этой категории пациентов [1]. Однако, несмотря на достижения последних лет, отсроченная начальная функция почечного трансплантата (ОФТ) является актуальной проблемой, так как влияет на его долгосрочную выживаемость [2–4]. После трансплантации почек от доноров со смертью мозга ОФТ встречается с частотой от 5 до 55 % [5–8]. Ранняя дисфункция пересаженной почки ассоциирована со снижением 10-летней выживаемости трансплантатов на 20 % [3].

Согласно результатам ряда научных исследований, для достижения удовлетворительной начальной функции донорской почки в условиях гипотермической статической консервации не менее важное значение имеет освобождение сосудистого русла от форменных элементов крови (ФЭК) [9]. Так, установлено, что при проведении перфузии почечного трансплантата цельной кровью применение фильтрации лейкоцитов из этой крови улучшает постишемическую функцию аллотрансплантата [10]. В литературе имеются данные о появлении в микроциркуляторном русле

(МЦР) коркового вещества почечного трансплантата стазов, полнокровия, фибриновых тромбов при снижении или утрате кровотока в почке на этапе ее эксплантации [11].

Наличие у доноров со смертью мозга на этапе кондиционирования нестабильной гемодинамики до 97 % [12, 13] требует применения инотропной поддержки с помощью кардиотонических препаратов, которые в высоких дозировках усугубляют нарушение микроциркуляции в почечной паренхиме [13]. Кроме того, не редки случаи остановки сердца донора с последующими успешными реанимационными мероприятиями и дальнейшим кондиционированием, что также может приводить к ишемии и нарушению микроциркуляции в мелких сосудах почки.

По нашей гипотезе, с целью улучшения освобождения от форменных элементов крови и фибриновых тромбов в микроциркуляторном русле почки при выполнении эксплантации почек целесообразно применять парентеральное введение раствора стрептокиназы в сосудистое русло умершего донора.

Цель работы – изучить влияние парентерального применения стрептокиназы при эксплантации органов у умершего донора на начальную функцию почечного трансплантата, а также оптимизацию температурного и временного факторов.

Материалы и методы исследования. Проведено рандомизированное когортное (в двух группах) одноцентровое клиническое исследование безопасности и эффективности применения комплекса мер по противоишемической защите трансплантата почки на этапе эксплантации.

В группу 1 (основная группа) вошли 44 реципиента, у которых на этапе эксплантации донорских почек применялся комплекс противоишемических мер, включающий охлаждение афферентной магистралы для подачи консервирующего раствора (КР) в сочетании с применением оригинальных канюль для перфузии органов [14] и парентеральным введением раствора стрептокиназы в дозе 1 500 000 МЕ за 10–15 мин до начала перфузии органов.

В группе 2 (группа сравнения) 47 пациентов получили трансплантат от умерших доноров, у которых эксплантация произведена в стандартных условиях, предусмотренных «Клиническим протоколом трансплантации почки», утвержденным Приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 05.01.2010 г. № 6.

Группы реципиентов были сопоставимы по основным демографическим признакам и характеру основной патологии почек, кроме статистически значимого различия по гендерному признаку (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Характеристика реципиентов в группах сравнения

Показатель	Группа 1 (n = 44)	Группа 2 (n = 47)	p
Мужчины/женщины, n (%)	31 (70,5)/13 (29,5)	19 (40,43)/28 (59,57)	0,0036*
Средний возраст, лет	46 (33,5; 54)	42 (35; 54)	0,72**
Сахарный диабет, n (%)	0	4 (8,5)	0,07*
Подагра, n (%)	1 (2,3)	1 (2,13)	0,73*
Поликистоз, n (%)	9 (20,45)	4 (8,5)	0,09*
Артериальная гипертензия, n (%)	5 (11,36)	1 (2,13)	0,08*
Врожденная аномалия мочевыводящих путей, n (%)	3 (6,8)	2 (4,26)	0,47*
Хронический гломерулонефрит, n (%)	26 (59,09)	35 (74,48)	0,09*
Перитонеальный диализ/гемодиализ, n (%)	2 (4,5)/42 (95,5)	6 (12,8)/41 (87,2)	0,15*
Длительность диализотерапии до трансплантации, мес.	28 (15,5; 56)	36 (20;76)	0,13**
Общая ишемия трансплантата, мин	540 (510; 705)	570 (440; 660)	0,3**

П р и м е ч а н и е. * – двусторонний вариант точного критерия Fisher, ** – критерий Mann–Whitney.

Доноры почек для реципиентов 1-й (n = 36) и 2-й (n = 35) групп не имели статистически значимых отличий по возрасту (42,8 (10,5) и 42,6 (9,15) года соответственно, p = 0,77), причинам смерти мозга (черепно-мозговая травма (ЧМТ) – 17 (47,2 %) и 16 (45,7 %)), острому нарушению мозгового кровообращения (ОНМК) (19 (52,8 %) и 19 (57,14 %), p = 0,52), частоте применения инотропной поддержки кардиотониками (25 (69,4 %) и 26 (74,3 %), p = 0,42), полу (мужчины – 24 (66,6 %) и 24 (68,57 %), женщины – 12 (33,4 %) и 11 (31,43 %), p = 0,53).

Показатели доноров также не выходили за пределы критериев маргинальности, а пациенты 1-й и 2-й групп были сопоставимы по длительности нахождения на искусственной вентиляции легких (ИВЛ) (3 (2; 4) и 3 (2; 4) сут соответственно, $p = 0,49$) и уровню сывороточного креатинина (109 (95; 119) и 104 (83; 121) мкмоль/л, $p = 0,5$).

В качестве консервирующего раствора для холодовой перфузии (флашинга) и консервации почек использовали раствор «Кустодиол» производства компании Dr. F. Köhler Chemie (Германия). За 10–15 мин до остановки кровотока и начала перфузии органов умершим донорам в обеих группах парентерально (внутривенно) вводили гепарин в дозе 25 000 МЕ.

Температуру КР до эксплантации измеряли путем введения через мембрану дополнительного канала стерильного игольчатого дистанционного термодатчика термометра (в упаковочной емкости) производства HANNA Instruments (США), а в приводящей (артериальной или афферентной) магистрали – путем введения термодатчика в просвет этой магистрали. Для измерения температуры трансплантата почки использовали разработанную методику (уведомление о положительном результате рассмотрения заявки на изобретение № 201400511/26 от 14.01.2015), в соответствии с которой датчик температуры вводили на всю длину почечной вены в глубь почки, не повреждая ее изнутри.

Для того чтобы не повреждать паренхиму трансплантата почки, воздействие стрептокиназы на микроциркуляторное русло оценивали путем изучения поперечных срезов нижней трети мочеточников трансплантатов как наиболее отдаленной части почечного трансплантата, кровоснабжаемой из одного и того же артериального сосуда.

Срез мочеточника № 1 отсекали ножницами до реперфузии на этапе предтрансплантационной подготовки алллогафта. Срез мочеточника № 2 получали через 5 мин после реперфузии трансплантата почки кровью реципиента. Кусочки мочеточника фиксировали в 10 %-ном нейтральном формалине в течение 24 ч, затем промывали в проточной воде, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации, проводили через спирт-хлороформ, хлороформ, хлороформ-парафин и заливали в парафин. Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 4–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Массону, а для выявления фибрина – MSB. Срезы изучали на наличие тромбов и фибрина на микроскопе Leica DMLB. Для подсчета ФЭК в просветах кровеносных сосудов и морфометрии производили фотографирование срезов на микроскопе Leica с использованием цифровой камеры Leica DC200, при 20-кратном увеличении объектива (размер оцифрованного изображения 1920×1536 пкс). Компонировку результирующего изображения (размером 12143×8746 пкс) осуществляли с помощью многофункционального графического редактора Adobe Photoshop CS5 на платформе Windows: file – automate – photomerge – reposition.

Используя полученные изображения, производили подсчет форменных элементов крови в просвете кровеносных сосудов и определение их площадей. Подсчет был ограничен областью наружного мышечного слоя мочеточника. Морфометрические исследования проводили с использованием компьютерной системы обработки и анализа изображений Bioscan-IW в лаборатории информационно-компьютерных технологий Белорусского государственного медицинского университета [15]. Максимальная относительная ошибка в измерениях не превышала 1 %, максимальная абсолютная ошибка составляла не более 5 % (рис. 1).

Проведен сравнительный анализ состояния микроциркуляторного русла мочеточников трансплантатов почки у 9 пациентов 1-й и 2-й групп.

Значение площади получено в реальных единицах (мкм²), для чего анализируемое микроизображение предварительно калибровали с помощью объект-микрометра. При сравнении площади срезов мочеточников в группах статистически значимых различий не выявлено (табл. 2).

Функцию почечного трансплантата оценивали на 7-е сутки раннего послеоперационного периода (ПОП) при помощи определения Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (uNGAL) мочи, сывороточного уровня креатинина и расчетной скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по MDRD. Начальная дисфункция трансплантата почки диагностировалась при наличии в ПОП замедленной (уровень креатинина крови более 300 мкмоль/л через 7 сут после операции) и/или отсроченной функции трансплантата (потребность в одном и более сеансах гемодиализа (ГМД) или перитонеально-

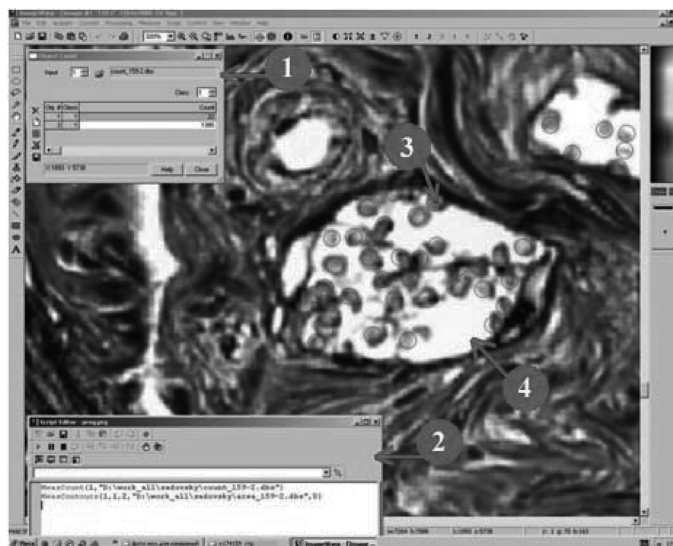


Рис. 1. Скриншот морфометрии ФЭК в просвете кровеносных сосудов среза мочеточника в системе Bioscan-IW: 1 – диалоговое окно, сопровождающее интерактивные измерения; 2 – окно создания и редактирования скриптовой подпрограммы; 3 – ФЭК в кровеносном сосуде; 4 – просвет кровеносного сосуда

Т а б л и ц а 2. Площади срезов мочеточников в группах, мкм²

Серия срезов мочеточника	Группа 1 (n = 9)	Группа 2 (n = 9)	p (Mann-Whitney)
№ 1	3,08·10 ⁶ (2,90·10 ⁶ ; 4,24·10 ⁶)	2,95·10 ⁶ (2,28·10 ⁶ ; 3,31·10 ⁶)	0,44
№ 2	3,80·10 ⁶ (3,13·10 ⁶ ; 4,07·10 ⁶)	2,97·10 ⁶ (2,08·10 ⁶ ; 3,81·10 ⁶)	0,31

го диализа (ПД) в первые 7 сут ПОП трансплантации). Учитывали факты кровотечения из послеоперационной раны, зон анастомозов до 7 сут ПОП.

Статистический анализ проводили с использованием непараметрических методов. Средние величины показаны как медиана с 25 %-ным и 75 %-ным квартильным интервалом – Me (25; 75) и как среднее арифметическое со средним квадратичным отклонением M (SD). Сравнение количественных величин выполняли с помощью тестов Mann-Whitney и Fisher. При $p < 0,05$ результаты считали статистически значимыми.

Результаты и их обсуждение. Выявлено, что применение комплекса противоишемических мер в основной группе было ассоциировано со статистически значимым снижением температуры КР в приносящей магистрали и температуры почки в конце процедуры флешинга по сравнению с группой сравнения. При этом температура КР в упаковке и на этапе подготовки почек к трансплантации не отличалась (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Динамика температур консервирующего раствора (КР) и трансплантата почки в группах, °С

Показатель	Группа 1 (n = 44)	Группа 2 (n = 47)	p (Mann-Whitney)
КР в упаковочной емкости	5,2 (4,5; 6)	5,3 (4,9; 6,1)	0,35
КР из артериальной магистрали	6,3 (5,3; 7)	7,2 (6,7; 8,2)	<0,0001
Почка после флешинга	12 (10,75; 13)	14,1 (13,8; 14,8)	<0,0001
Почка до окончательной перфузии	3,2 (2,45; 3,95)	3,1 (2,3; 3,5)	0,6
Почка после окончательной перфузии	7,8 (7; 8,1)	8 (7,1; 8,5)	0,35

Применение разработанного нами набора оригинальных канюль для перфузии органов позволило сократить время флешинга в основной группе до 15 (11; 18,5) мин против 17 (14; 20) мин в группе сравнения ($p = 0,033$).

Количество форменных элементов крови в просвете кровеносных сосудов в срезах мочеточника до реперфузии в группе с применением стрептокиназы было достоверно меньше (рис. 2).

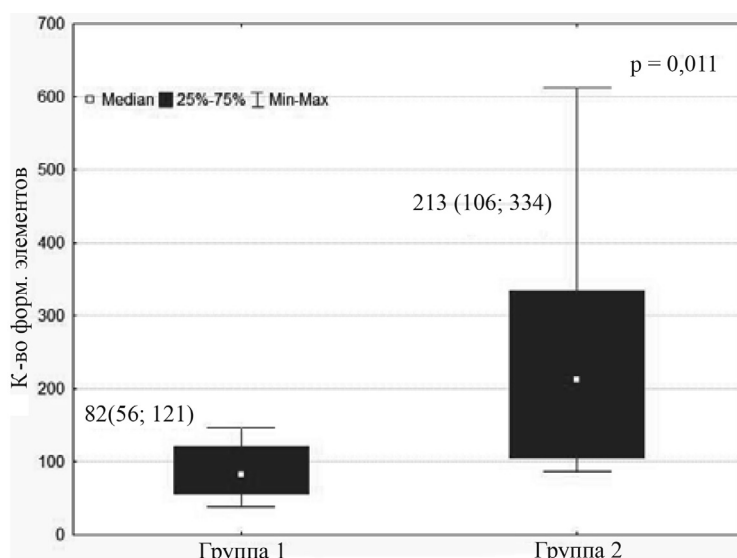


Рис. 2. Количество ФЭЖ в серии срезов № 1 кровеносных сосудов мочеточников в группах сравнения

В гистологических препаратах мочеточника после реперфузии трансплантата в основной группе просветы кровеносных сосудов содержали большее количество форменных элементов, чем в сосудах группы сравнения. Однако статистически значимыми выявленные различия считать нельзя (табл. 4).

Т а б л и ц а 4. Количество форменных элементов крови в срезах мочеточников до и после рециркуляции трансплантата почки

Серия срезов мочеточника	Группа 1 (n = 9)	Группа 2 (n = 9)	p (Mann-Whitney)
№ 1	82 (56; 121)	213 (106; 334)	0,011
№ 2	1368 (570; 1632,5)	808 (629; 1035)	0,27

Кроме того, статистически значимых различий между показателями стабилизированного фибрина в гистологических препаратах мочеточников в основной группе и в группе сравнения не установлено. Фибрин в виде пристеночных масс, окрашенных в красный цвет (окраска MSB), выявлен в сосудах мелкого калибра (по два случая в основной группе и группе сравнения). Подобные изменения чаще встречались в сосудах парауретеральной соединительной ткани. В основной группе в одном наблюдении помимо фибрина обнаружены единичные гиалиновые тромбы сосудов микроциркуляторного русла стенки мочеточника.

При изучении функциональных характеристик трансплантата почки установлено статистически значимое снижение количества ранних дисфункций трансплантата почки в группе 1 ($p = 0,0001$). Кроме того, в основной группе маркеры почечной функции uNGAL, сывороточный уровень креатинина, СКФ по MDRD в раннем ПОП имели достоверно лучшие показатели, чем у реципиентов группы сравнения (табл. 5).

Т а б л и ц а 5. Функциональные характеристики трансплантата почки в группах

Показатель	Группа 1	Группа 2	p
uNGAL, мг/мл	174,9 (90,7; 294,7)	409,2 (189,3; 789,5)	0,005**
СКФ по MDRD на 7-е сутки ПОП, мл/мин	41 (24; 56)	28 (12; 47)	0,042**
Креатинин на 7-е сутки ПОП, мкмоль/л	169,5 (126,5; 270)	250 (149; 476)	0,026**
Замедленная функция, n (%)	3 (6,82)	6 (12,76)	0,28*
Отсроченная функция, n (%)	3 (6,82)	18 (38,3)	0,003*
Всего дисфункций, n (%)	6 (13,64)	24 (51,06)	0,0001*

П р и м е ч а н и е. * – двусторонний вариант точного критерия Fisher, ** – критерий Mann-Whitney.

Эпизодов кровотечения из послеоперационной раны и анастомозов в течение 7 сут ПОП в обеих группах не выявлено.

В данном исследовании для снижения частоты ОФТ использовали комплексный подход. Воздействие на температурный фактор простого охлаждения афферентной магистралы позволяло предотвращать нагревание консервирующего раствора и, соответственно, охлаждать паренхиму почки до оптимального уровня. В результате в группе 1 температура почки была на 2,1 °С ниже, чем в группе 2, и не превышала предельно допустимого показателя в 13,4 °С [16].

Уменьшение времени флашинга с помощью применения комплекта канюль для перфузии позволило эффективно влиять на временной фактор. Время флашинга снизилось на 2 мин в группе 1 по сравнению с группой 2 и составило 14 мин.

Таким образом, с помощью вышеперечисленных мер нами достигнуто быстрое и глубокое охлаждение почечного трансплантата.

В результате проведенного исследования установлено, что дополнительное использование стрептокиназы перед эксплантацией органов позволяет уменьшить количество форменных элементов крови в просвете микроциркуляторного русла мочеточника по сравнению с использованием только системной гепаринизации. В срезах мочеточников до реперфузии в группе с применением стрептокиназы в просвете сосудов микроциркуляторного русла было меньше форменных элементов крови, чем в группе сравнения, где применяли только гепарин. Стрептокиназа, являясь непрямым активатором плазминогена, растворяет имеющиеся фибриновые тромбы [17, 18]. При лизисе тромбов в МЦР происходит их разделение на составные части, что ведет к эффективному освобождению просветов сосудов от форменных элементов крови и метаболитов. Учитывая, что одним из условий немедленной функции после реперфузии почечного трансплантата является освобождение всего кровеносного русла от форменных элементов крови донора [9] и что в состав тромба входит фибрин и форменные элементы крови [17], такой результат говорит об эффективности дополнительного применения стрептокиназы.

Во второй серии срезов мочеточников (т. е. через 5 мин после реперфузии) в группе с применением стрептокиназы в просвете сосудов микроциркуляторного русла было больше форменных элементов крови, что указывает на лучшую проходимость сосудов, чем в группе контроля, однако статистически значимых различий не выявлено.

Нами не установлено статистически значимых различий в наличии фибрина или фибриновых тромбов в сосудах срезов мочеточников в сравниваемых группах, что связано, скорее всего, с удовлетворительной коррекцией нарушений гемостаза на этапе кондиционирования доноров.

В результате нашего исследования общее количество ранних дисфункций в группе с применением комплексного воздействия на тепловой, временной факторы и на микроциркуляторное русло почечного трансплантата снизилось на 37,4 % (13,7 % в основной группе против 51,1 % в группе сравнения).

Заключение. Комплекс мер противоишемической защиты трансплантата почки, включающий внутривенное введение стрептокиназы в совокупности с применением набора оригинальных канюль для перфузии органа и предварительным охлаждением приносящей магистралы на этапе эксплантации почек у донора со смертью мозга эффективно снижает частоту отсроченной функции почечного трансплантата в раннем послеоперационном периоде.

Введение стрептокиназы способствует лучшему освобождению микроциркуляторного русла мочеточника трансплантата почки от форменных элементов крови во время проведения флашинга.

Применение стрептокиназы у доноров со смертью мозга перед эксплантацией является безопасным с точки зрения возникновения кровотечений у реципиентов.

Список использованной литературы

1. Современные технологии и клинические исследования в трансплантации почки / Я. Г. Мойсюк [и др.] // Вестн. трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. 16, № 3. – С. 63–75.
2. Effects of ischemia-reperfusion injury in kidney transplantation: risk factors and early and long-term outcomes in a single center / P. Ditunno [et al.] // Transplant. Proc. – 2013. – Vol. 45, N 7. – P. 2641–2644.
3. Major effects of delayed graft function and cold ischemia time on renal allograft survival / I. Quiroga [et al.] // Nephrol. Dialysis Transplant. – 2006. – Vol. 21, N 6. – P. 1689–1696.

4. Cold ischemia is a major determinant of acute rejection and renal graft survival in the modern era of immunosuppression / D. Mikhalski [et al.] // *Transplantation*. – 2008. – Vol. 85, N 7S. – P. S3–S9.
5. Delayed graft function: a frequent but still unsolved problem in renal transplantation / I. Szwarc [et al.] // *Nephrol. Ther.* – 2005. – Vol. 1. – P. 325–334.
6. Шамаева, Е. Н. Влияние специфических (антиген-зависимых) и неспецифических (антиген-независимых) факторов на отдаленные результаты трансплантации почки у больных сахарным диабетом I типа / Е. Н. Шамаева, М. В. Шестакова, Н. А. Томилина // *Нефрология и диализ*. – 2007. – Т. 9, № 2. – С. 136–142.
7. Delayed Graft Function in Kidney Transplants: Time Evolution, Role of Acute Rejection, Risk Factors, and Impact on Patient and Graft Outcome / M. Chaumont [et al.] // *J. of Transplant.* – 2015. – Vol. 2015.
8. Risk factors for delayed graft function in University of Wisconsin solution preserved kidneys from multiorgan donors / O. Koning [et al.] // *Transplant. Proc.* – 1995. – Vol. 27. – P. 752–753.
9. Preservation of Renal Allografts for Transplantation / Marco Antonio Ayala-García [et al.]; ed. by Dr. Layron // *Long Renal Transplantation – Updates and Advances*. – 2012. – P. 1–16.
10. Leucocyte depletion improves renal function during reperfusion using an experimental isolated haemoperfused organ preservation system / S. Harper [et al.] // *Brit. J. of Surg.* – 2006. – Vol. 93, N 5. – P. 623–629.
11. Зайналов, А. К. Клинико-морфологические данные при получении и трансплантации донорских органов / А. К. Зайналов // *Вестн. хирургии Казахстана*. – 2011. – № 4. – С. 51–54.
12. Садовский, Д. Н. Температурный фактор при эксплантации и консервации аллографта почки от донора со смертью мозга, как фактор предиктор отсроченной функции трансплантата / Д. Н. Садовский, О. В. Калачик, Г. В. Жук // *Мед. журн.* – 2015. – № 3. – С. 142–147.
13. Принципы интенсивной терапии донора со смертью мозга / С. К. Сергеенко [и др.] // *Вестн. трансплантологии и искусственных органов*. – 2010. – Т. 12, № 4. – С. 72–79.
14. Канюля для перфузии органа при эксплантации: пат. 18199 Респ. Беларусь, МПК А61М31/00 / Д. Н. Садовский, О. В. Калачик; заявитель Учреждение здравоохранения «9-я городская клиническая больница». – № а 20121509; заявл. 2012.10.30; опубл. 30.04.14 // *Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці*. – 2014. – № 2. – С. 56.
15. Недзьведзь, А. М. Анализ изображений для решения задач медицинской диагностики / А. М. Недзьведзь, С. В. Абламейко. – Минск: ОИПИ НАН Беларуси, 2012. – 240 с.
16. Влияние оптимизации температурного фактора на начальную функцию трансплантата почки / Д. Н. Садовский [и др.] // *Мед. журн.* – 2015. – № 4. – С. 97–101.
17. Физиология человека: в 3 т. / под ред. Р. Шмидта и Г. Тевса; пер. с англ. – М.: Мир, 1996. – Т. 2. – С. 786.
18. Окорочков А. Н. Лечение болезней внутренних органов: практ. руководство: в 3 т. – Витебск: Белмедкнига, 1998. – С. 445. – Т. 3, кн. 1: Лечение заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Поступила в редакцию 18.02.2016

УДК 616.831-005.4-07:004.14]-08

Н. И. НЕЧИПУРЕНКО, Л. А. ВАСИЛЕВСКАЯ, И. Д. ПАШКОВСКАЯ, Г. В. ЗОБНИНА
**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПЕРСОНИФИЦИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ
С ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

*Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Беларусь,
e-mail: luda_vass@mail.ru*

Целью работы явилась оценка эффективности персонафицированного лечения пациентов с хронической ишемией мозга I стадии. Все пациенты ($n = 51$) были разделены на контрольную группу (получали базисную терапию) и две основные группы (1-я группа – базисная терапия + электрофорез милдроната + нейрамин; 2-я – базисная терапия + внутривенное лазерное облучение крови + нейрамин). На основании динамики биохимических показателей и параметров сосудистой реактивности и с учетом характера нарушения кожной микрогемодинамики и метаболических изменений показана целесообразность назначения пациентам с хронической ишемией мозга персонафицированного комплексного лечения, включающего лекарственные средства и физические факторы.

Ключевые слова: хроническая ишемия мозга, сосудистая реактивность, перекисное окисление липидов, лекарственные средства, внутривенное лазерное облучение крови.

N. I. NECHIPURENKO, L. A. VASILEVSKAYA, I. D. PASHKOUSKAYA, H. V. ZOBNINA

**EFFECTIVENESS OF PERSONIFIED TREATMENT OF PATIENTS
WITH CHRONIC CEREBRAL ISCHEMIA**

Republican Scientific and Practical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Belarus, e-mail: luda_vass@mail.ru

The aim of the work was to evaluate the effectiveness of differential treatment for patients with chronic cerebral ischemia (CCI) of the 1st stage. The survey was attended by 51 patients divided into a control group that underwent basic therapy, and 2 major groups (Group 1 – basic therapy + electrophoresis of mildronat + neyramin; 2nd – basic therapy + intravenous laser irradiation of blood (ILIB) + neyramin. On the basis of the dynamics of biochemical parameters and vascular reactivity parameters and with regard to the violation of the skin microhemodynamics (MHD) and metabolic changes it is expedient to prescribe a complex treatment, including medications and physical factors, to patients with differentiated CCI.

Keywords: chronic cerebral ischemia, vascular reactivity, lipid peroxidation, medications, intravenous laser irradiation of blood.

Введение. Хроническая ишемия головного мозга (ХИМ) представляет собой прогрессирующее диффузное или мультифокальное нарушение мозгового кровотока, проявляющееся неврологическими и психическими синдромами. Наиболее частыми ее причинами являются атеросклероз артерий и артериальная гипертензия [1–4]. В зависимости от выраженности клинических симптомов ХИМ (дисциркуляторная энцефалопатия (ДЭ)) подразделяется на три стадии. I стадия ДЭ характеризуется в основном субъективными и вегетативными расстройствами. Однако уже на I стадии нередко определяются неврологические синдромы, хотя и незначительно выраженные. Как правило, пациенты с I стадией долгое время остаются трудоспособными и при рациональном лечении у них может наступить некоторый регресс неврологических симптомов. В развитии ДЭ основная роль принадлежит гипоксии. Показано, что хроническая гипоперфузия мозга вызывает в основном изменения белого вещества (демиелинизацию, поражение клеток олигодендроглии, активацию и разрастание микроглии и астроцитов), приводит к апоптозу нейронов [5, 6]. Следствием уменьшения кровоснабжения мозга является диффузное изменение белого вещества – лейкоареоз [7], выявляемый с помощью рентгеновской компьютерной томографии (КТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ).

В патогенезе ишемических повреждений мозга значительное место занимает окислительный стресс. Активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) наблюдается как при острых, так и при хронических расстройствах мозгового кровотока, обусловленных нарушениями различного генеза: атеросклеротической, гипертонической энцефалопатией либо их сочетанием [8, 9]. Усиление реакций свободнорадикального окисления приводит к поражению мембранных структур клеток вследствие инициации перекисидации липидного слоя мембран [10]. Дестабилизация мембранных процессов при активации реакций ПОЛ выявлена и при ДЭ [11].

Некоторыми авторами обнаружена корреляционная связь между степенью выраженности снижения метаболитов антиоксидантной системы (АОС) и усилением процессов ПОЛ с прогрессированием атеросклеротической ДЭ, причем увеличение содержания продуктов ПОЛ как в плазме, так и в эритроцитах и угнетение активности каталазы характерны для всех стадий заболевания [12].

При ДЭ мозговой кровоток нарушается преимущественно в зонах смежного кровоснабжения между ветвями медуллярных артерий, идущих с поверхности мозга и от хориоидальных артерий, так как в этих зонах недостаточно развито коллатеральное кровообращение. При этом морфологически относительно сохранна кора головного мозга, но больше страдает белое вещество, в первую очередь олигодендроциты, осуществляющие функцию синтеза и поддержания структуры миелина.

Развитие наиболее ранних изменений в перивентрикулярных отделах белого вещества, включая изменения эндимиоцитов, вен и сосудистых сплетений, указывает на существенную роль в патогенезе ДЭ расстройств венозного кровообращения, нарушений гематоэнцефалического барьера и ликвородинамики. Все это обуславливает высокую уязвимость белого вещества и развитие более тяжелой его патологии по сравнению с корой головного мозга.

В качестве интегрального показателя адаптационных возможностей сосудистой системы рассматривается реактивность сосудов мозга, уровень которой оказывает влияние не только на церебральный кровоток, но и на центральную гемодинамику.

Следовательно, устранение кислородной недостаточности и поддержание адекватного уровня окислительно-восстановительных и про-, антиоксидантных реакций в организме служит неотъемлемым звеном саногенетических процессов при ХИМ. Поэтому важной задачей научных исследований является установление взаимосвязи между отдельными показателями углеводно-энергетического обмена, про-, антиоксидантного баланса и параметрами церебральной микрогемодинамики (МГД) с целью терапевтической коррекции выявленных нарушений у пациентов с ХИМ.

Цель работы – оценить эффективность дифференцированного лечения, разработанного в зависимости от характера метаболических и гемодинамических нарушений у пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией I стадии.

Материалы и методы исследования. В исследование были включены пациенты ($n = 51$), находившиеся на стационарном лечении в неврологических отделениях РНПЦ неврологии и нейрохирургии. Проведена оценка неврологического статуса, результатов анализа МРТ или КТ данных, ультразвуковой высокочастотной доплерографии, биохимических показателей, на основании которых сформированы группы пациентов с ХИМ, получавших дифференцированное лечение.

Первая основная группа – 17 пациентов (7 мужчин, 10 женщин, медиана возраста которых составила 57 (54–57) лет) с I стадией ДЭ атеросклеротического генеза при нормальном артериальном давлении или артериальной гипертензии первой степени, что подтверждено результатами клинического и нейровизуализационного обследования и данными ультразвуковой доплерографии (УЗДГ) брахиоцефальных артерий. Комплексное лечение пациентов этой группы включало базисную терапию (БТ), электрофорез милдроната на воротниковую область и лекарственное средство нейрамин.

Вторая основная группа – 20 пациентов (6 мужчин, 14 женщин, медиана возраста которых составила 63 (58–67) года) с I стадией ДЭ смешанного (атеросклеротического и гипертонического)

генеза. Комплексное лечение пациентов этой группы включало БТ, внутривенное лазерное облучение крови (ВЛОК) и нейрамин.

Проведено сравнение эффективности лечения пациентов основных групп и 14 лиц контрольной группы (6 мужчин и 8 женщин, медиана возраста которых составила 67,5 (64–73,5) года), получавших только БТ. Нормальные значения функциональных и биохимических показателей изучены у 25 практически здоровых лиц.

БТ включала использование антиагрегантов (кардиомагнила или полокарда по 75 мг внутрь ежедневно), антиоксидантов (5 %-ного раствора мексидела по 4 мл внутривенно/внутримышечно), симптоматической терапии (гипотензивных, седативных средств).

Для лечения пациентов с ДЭ атеросклеротического генеза в 1-й основной группе дополнительно к БТ применяли электрофорез 10 %-ного водного раствора милдроната с положительного полюса (плотность тока составила 0,03–0,05 мА/см²) на воротниковую область в течение 15–20 мин в количестве 8 ежедневных процедур и лекарственное средство нейрамин.

Известно, что милдронат улучшает реологические свойства крови и гемодинамику в церебральных структурах, повышает устойчивость нейронов к гипоксии, уменьшая повреждение нервных клеток и рефлекторные нарушения, восстанавливает координацию и вегетативные функции, оказывает антиоксидантное и антистрессорное действие. Применение милдроната в виде электрофореза на воротниковую область создает подкожное депо препарата, что обеспечивает пролонгированную стимуляцию выработки NO и более выраженный клинический эффект.

Фармакологические свойства нейрамина обусловлены синергичным действием содержащихся в нем аминокислот: L-триптофана, глицина и L-аргинина–L-аспартата, которые улучшают энергетический метаболизм мозга, повышают умственную работоспособность, устойчивость к психоэмоциональным нагрузкам, способствуют нейтрализации и выведению из организма аммиака, увеличивают синтез оксида азота, что улучшает микрогемодинамику.

Пациенты 2-й основной группы на фоне БТ получали нейрамин по 2 капсулы 3 раза в день и подвергались ВЛОК. Нейрамин назначали во время пребывания в стационаре и в последующем до 1 мес. Для ВЛОК использовали лазерный аппарат «Люзар-МП» с длиной волны 0,67 мкм в красной области излучения и мощностью на выходе световода 2,5–3 мВт. Курс лечения составлял 7–8 процедур продолжительностью 20 мин ежедневно. ВЛОК назначали с целью достижения антиоксидантного, антигипоксического, модулирующего показатели микрогемодинамики эффектов [13].

Для оценки клинического состояния пациентов проведен формализованный анализ признаков заболевания по разработанной нами интегрированной шкале количественной оценки выраженности ДЭ [14].

Содержание пирувата определяли модифицированным методом Умбрайт. Концентрацию лактата исследовали на анализаторе Biosen C_line. Выраженность процессов ПОЛ оценивали по содержанию их вторичных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-П), с помощью модифицированного метода В. А. Костюка. Из показателей ферментативного антиоксидантного звена оценивали активность супероксиддисмутазы (СОД) в цельной крови по реакции супероксидзависимого окисления кверцетина и каталазы в плазме крови по методу М. А. Королюка. Все методики приведены в работе [15].

Вазомоторная функция эндотелия исследована методом высокочастотной УЗДГ с использованием прибора «Минимакс-Допплер-К», имеющего датчик с частотой излучения 20 МГц. Сосудистую реактивность оценивали по динамике скоростных характеристик кровотока в кожных покровах кисти с помощью модифицированного нами теста реактивной гиперемии. Регистрацию доплерограмм выполняли до компрессии плечевой артерии, через 1 мин после декомпрессии, в дальнейшем – каждую минуту в течение 5 мин реперфузионного периода и сравнивали значения показателей с исходными данными. Определяли линейные скорости кровотока (см/с): *V_{as}* – максимальную систолическую скорость кровотока, *V_{am}* – среднюю линейную скорость кровотока; объемные скорости кровотока (мл/мин/см³): *Q_{as}* – систолическую объемную скорость, *Q_{am}* – среднюю объемную скорость.

Полученные результаты обрабатывали с помощью статистической программы Statistica 6.0. Числовые данные проверяли на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро–Уилка. В случае нормального распределения результаты представлены в виде среднего и стандартного отклонения, при ненормальном – в виде медианы и 25–75-го перцентилей. Сравнение полученных результатов между группами проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента для независимых групп или критерия Манна–Уитни; *W*-критерий Вилкоксона применяли при сравнении результатов двух зависимых групп, метод Крускала–Уоллиса – при сравнении трех и более независимых групп. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В процессе лечения состояние пациентов, особенно в основных группах, заметно улучшилось: уменьшились головная боль, шаткость при ходьбе, головокружение, тревожность, плаксивость, улучшился сон. Независимо от назначенного лечения у пациентов основных и контрольной групп с I стадией ДЭ статистически значимых различий в выраженности клинических симптомов не установлено (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Оценка динамики клинического состояния пациентов основных и контрольной групп до и после лечения, балл

Основные группы				Контрольная группа	
БТ + электрофорез милдроната + нейрамин		БТ + ВЛОК + нейрамин		БТ	
До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
19,9 ± 4,3	12,2 ± 2,2 $p < 0,004$	19,7 ± 2,0	13,2 ± 2,3 $p = 0,001$	18,0 ± 2,2	14,9 ± 2,8 $p < 0,008$

П р и м е ч а н и е. p – различия статистически значимы в сравнении с данными до лечения.

При исследовании биохимических изменений у пациентов с ДЭ I стадии в контрольной и двух основных группах на момент госпитализации установлены однотипные метаболические нарушения в виде повышения соотношения лактат/пируват (Л/П), возрастания уровня ТБК-П на фоне значимого снижения активности СОД по сравнению с аналогичными показателями у здоровых лиц, что подтверждает наличие клеточного энергодифицита и активации процессов свободнорадикального окисления, характерных для ХИМ (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Показатели метаболитов углеводного обмена, про-, антиоксидантной систем крови у пациентов с ДЭ в контрольной и основных группах, Ме (25–75 перцентили)

Показатель	Здоровые лица ($n = 25$)	Контрольная группа ($n = 14$)		1-я основная группа ($n = 17$)		2-я основная группа ($n = 20$)	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Лактат, ммоль/л	1,15 (0,92; 1,72)	1,51 (1,2; 2,19) $p = 0,037$	1,55 (1,26; 1,98)	1,52 (1,23; 1,92)	1,35 (1,14; 1,59)	1,54 (1,12; 1,82)	1,39 (1,21; 1,86)
Пируват, ммоль/л	0,15 (0,10; 0,18)	0,09 (0,08; 0,11) $p = 0,002$	0,11 (0,09; 0,12) $p = 0,01$	0,09 (0,08; 0,1) $p = 0,00009$	0,1 (0,08; 0,11) $p = 0,0008$	0,08 (0,07; 0,11) $p = 0,0003$	0,11 (0,1; 0,13) $p_1 = 0,0026$
Лактат/пируват	9,1 (5,6; 14,4)	17,0 (11,3; 19,7) $p = 0,0019$	15,8 (12,2; 21,3) $p = 0,01$	16,1 (13,5; 20,8) $p = 0,0018$	12,1 (10,8; 16,6) $p_1 = 0,016$	19,0 (12,9; 23,1) $p = 0,00066$	13,9 (11,1; 15,8) $p = 0,017$ $p_1 = 0,013$
ТБК-П, мкмоль/л	2,04 (1,61; 2,54)	2,38 (2,0; 2,87) $p = 0,02$	2,42 (1,7; 3,21)	3,5 (2,7; 4,2) $p = 0,0012$	2,2 (1,9; 3,7) $p_1 = 0,0089$	2,84 (2,15; 3,85) $p = 0,0042$	2,15 (1,58; 2,65)
СОД, Е/мл	98,8 (89,7; 108,3)	80,4 (72,8; 104,9) $p = 0,042$	86,5 (71,9; 99,7) $p = 0,044$	84,8 (68,8; 114,7)	86,7 (74,1; 102,9)	80,9 (70,2; 100,3) $p = 0,011$	92,9 (87,0; 119) $p_1 = 0,049$
Каталаза, усл. ед/с-мл	22,2 (18; 28,8)	17,4 (9,9; 29,4)	22,8 (18,6; 41,1)	25,5 (10,5; 37,5)	20,7 (12,3; 26,4)	25,8 (12,6; 45,0)	21,5 (17,4; 30,6)

П р и м е ч а н и е. Различия статистически значимы: p – по сравнению с данными здоровых лиц, p_1 – по сравнению с данными до и после лечения.

После курса БТ у пациентов контрольной группы изученные биохимические показатели достоверно не отличались от исходных значений. Соотношение Л/П ($p = 0,01$) и активность СОД ($p = 0,044$) достоверно отличались от показателей здоровых лиц, в то время как содержание лактата, ТБК-П и активность каталазы находились в пределах вариации нормальных значений.

После комплексного лечения у пациентов 1-й основной группы установлено достоверное снижение соотношения Л/П ($p_1 = 0,016$) относительно исходных данных, что указывает на происходящие метаболические изменения в тканях, связанные с улучшением поступления кислорода в клетки и стимулированием перехода энергетического метаболизма клеток мозга на аэробный гликолиз. Кроме того, после курса электрофореза милдроната и нейрамина уменьшилось содержание ТБК-П ($p_1 = 0,0089$), а активность ферментов СОД и каталазы существенно не изменилась относительно данных до лечения, находясь в пределах вариации нормальных значений.

При использовании курса ВЛОК и нейрамина на фоне БТ у пациентов 2-й основной группы соотношение Л/П достоверно снизилось ($p_1 = 0,013$) по сравнению с исходными данными, но оставалось выше нормы ($p = 0,017$). В то же время выявлено значимое увеличение активности СОД ($p_1 = 0,049$) и нормализация содержания ТБК-П, что свидетельствует о восстановлении равновесия в про-, антиоксидантной системах крови.

Следовательно, у пациентов 1-й основной группы, получавших электрофорез милдроната + нейрамин, отмечались нормализация соотношения Л/П и улучшение про-, антиоксидантного баланса. У пациентов 2-й основной группы, получавших ВЛОК + нейрамин, выявлена большая степень коррекции про-, антиоксидантного состояния крови при сохранении повышения соотношения Л/П.

Таким образом, у пациентов с ДЭ атеросклеротического генеза для коррекции углеводно-энергетических изменений гипоксического характера назначение электрофореза милдроната дополнительно к БТ оказалось более эффективным.

Исследование МГД-показателей реактивности сосудов кожных покровов у пациентов с I стадией ДЭ атеросклеротического генеза показало, что при выполнении теста реактивной гиперемии адекватные по направленности реакции сосудов кожного микроциркуляторного русла с возрастанием значений скоростных характеристик кровотока в периоде реперфузии отмечались у 11 (64,7 %) человек, что было реже ($p = 0,015$), чем в группе здоровых добровольцев (96 %). У 1 (5,9 %) пациента в течение наблюдаемого периода реакция микрососудов не зарегистрирована (рис. 1).

У 5 (29,4 %) человек, в отличие от здоровых лиц ($p = 0,015$), на протяжении всего реперфузионного периода наблюдали снижение максимальной систолической линейной и систолической

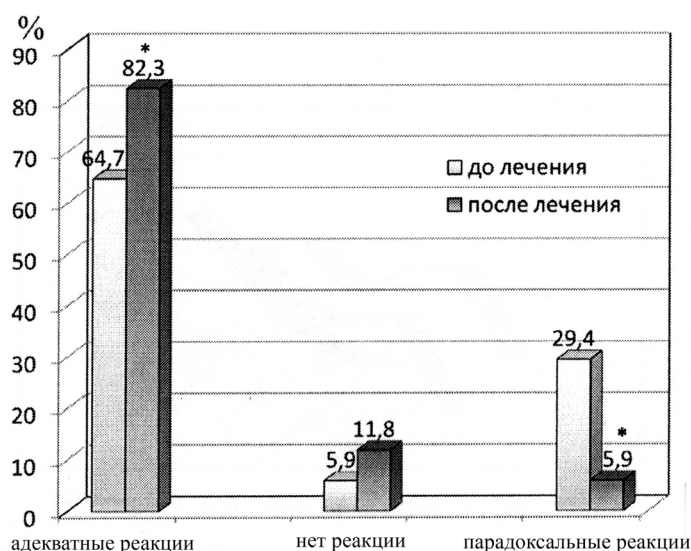


Рис. 1. Распределение пациентов с ДЭ в 1-й основной группе до и после комплексного лечения с применением милдроната и нейрамина по характеру реакции (по данным *Vas*).
На рис. 1–3 * – различия статистически значимы по сравнению с исходными данными в каждой группе

объемной скоростей кровотока (Vas и Qas) в сравнении с исходными значениями, что обусловлено развитием парадоксальных реакций (рис. 1).

Адекватные реакции, впервые зарегистрированные в конце 1-й минуты реперфузионного периода, выявлены в 63,6 % случаев (у 7 из 11 пациентов), в то время как у здоровых лиц – в 96 % случаев ($p = 0,038$). При этом у 3 (27,3 %) обследованных впервые наблюдаемые адекватные сосудистые реакции зарегистрированы через 2 мин после декомпрессии плечевой артерии (оценены как замедленные), у 1 (9,1 %) – на 5-й минуте реперфузии (оценены как длиннолатентные).

У пациентов 1-й основной группы с адекватными сосудистыми реакциями до лечения статистически значимое увеличение Vam и Qam на 31,5 и 28,9 % соответственно наблюдали только через 2 мин после декомпрессии плечевой артерии, которое не отличалось по величине от данных, установленных у здоровых лиц (36 %). Остальные скоростные показатели кровотока в эти сроки реперфузионного периода были разнонаправленны или имели лишь тенденцию к возрастанию значений ($p = 0,06-0,08$).

После комплексного лечения с применением электрофореза милдроната и нейрамина количество парадоксальных реакций уменьшилось с 29,4 до 5,9 % (1 пациент). У 2 (11,8 %) человек изменений скорости кровотока после декомпрессии плечевой артерии не зарегистрировано. При этом число лиц с адекватными по направленности реакциями сосудов, зарегистрированными в конце 1-й и 2-й минут реперфузионного периода, возросло до 100 %. Следовательно, не только увеличилось количество пациентов с адекватными по направленности сосудистыми реакциями, но и уменьшилась латентность их возникновения. Возрастание скоростных показателей кожной МГД в период реперфузии колебалось от 22,5 до 25 %, что было статистически значимо по отношению к исходным данным, в отличие от результатов, установленных до лечения (табл. 3). Наблюдаемые изменения показателей стали более стабильными и регистрировались в течение всего периода декомпрессии, однако оставались менее выраженными в сравнении с таковыми у здоровых добровольцев, у которых прирост значений линейных и объемных скоростей кровотока составил 43,8 % для Vas и Qas и 36 % для Vam и Qam .

Т а б л и ц а 3. Динамика показателей кожной МГД (в % к исходным значениям) в период декомпрессии у пациентов с ДЭ и адекватными сосудистыми реакциями 1-й основной группы при выполнении теста реактивной гиперемии до и после лечения (Ме – 25–75 процентиля, $n = 11$)

Время	Показатель УЗДГ			
	$Vas, \%$	$Vam, \%$	$Qas, \%$	$Qam, \%$
<i>До лечения</i>				
1-я минута	33,3 (0; 58,3) $p = 0,08$	28,9 (4,3; 66,9)	33,3 (0; 68,9) $p = 0,07$	29 (-10; 7; 63,4)
2-я минута	2,5 (0; 56) $p = 0,02$	31,5 (-8,9; 52,4) $p = 0,044$	2,5 (0; 56) $p = 0,06$	28,9 (-7,6; 46,8) $p = 0,044$
3-я минута	0 (-13,3; 38)	-8,2 (-24,6; 38,7)	0 (-13,3; 38)	-5,6 (-23,3; 36,3)
4-я минута	13,3 (-26,7; 33)	15,7 (-34,1; 60)	13,3 (-26,7; 33)	16,9 (-18,9; 50)
5-я минута	5 (-18,3; 33,3)	12,6 (-5,3; 40,6)	5 (-18,3; 41,7)	13,9 (-4,4; 40,4)
<i>После лечения</i>				
1-я минута	25 (16,7; 50) $p = 0,0012$	24,1 (14,5; 54,7) $p = 0,0003$	25 (16,7; 50) $p = 0,0012$	23,6 (14,4; 55,4) $p = 0,0003$
2-я минута	25 (12,5; 50) $p = 0,005$	27,4 (-1,2; 64,7) $p = 0,023$	24,8 (12,3; 50) $p = 0,008$	27,5 (-1,4; 64,6) $p = 0,023$
3-я минута	0 (0; 50) $p = 0,07$	2,1 (-23; 5)	0 (0; 49,7)	2 (-23; 51,1)
4-я минута	25 (0; 100) $p = 0,002$	23,1 (-19,2; 74,5)	24,8 (0; 99,6) $p = 0,004$	23,1 (-19; 74,5) $p = 0,023$
5-я минута	25 (0; 83) $p = 0,005$	22,54 (-9,5; 90,1)	25 (0; 83,1) $p = 0,007$	22,5 (-9,3; 90,6) $p = 0,012$

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 4 p – различия статистически значимы в сравнении с исходными показателями.

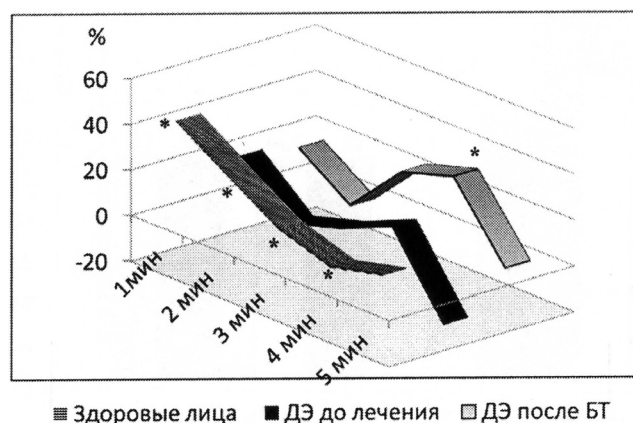


Рис. 2. Динамика Q_{as} (в % к исходным значениям) у здоровых лиц и у пациентов с ДЭ и адекватными сосудистыми реакциями контрольной группы до и после базисной терапии

У пациентов с ДЭ контрольной группы позитивная динамика БТ выражалась в увеличении числа лиц с адекватными по направленности сосудистыми реакциями (от 90 до 100 %). Однако при анализе паттерна сосудистых реакций существенных различий в 1-ю минуту реперфузии до и после лечения не установлено, а наиболее выраженные статистически значимые изменения после лечения проявились на 4-й минуте реперфузионного периода. При этом исследуемые реакции в первые 2 мин декомпрессии оставались сниженными в количественном отношении по сравнению с данными, полученными у здоровых добровольцев (рис. 2).

Таким образом, у пациентов с ДЭ I стадии БТ способствует снижению количества парадоксальных сосудистых реакций, не оказывая существенного влияния на прирост скоростных характеристик кровотока и их латентность с максимальными сдвигами их значений через 3–4 мин после декомпрессии в условиях выполнения теста реактивной гиперемии.

Включение в комплексное лечение электрофореза милдроната и нейрамина способствует не только формированию адекватных сосудистых реакций, но и улучшению функционального состояния эндотелия сосудов микрогемоциркуляторного русла кожных покровов, что проявилось в развитии коротколатентных устойчивых реакций, наблюдаемых в течение 5 мин реперфузионного периода. В то же время прирост значений скорости кровотока у пациентов этой группы был ниже, чем у здоровых людей.

Установлено, что адекватные по направленности реакции сосудов у пациентов с ДЭ 2-й основной группы наблюдались в 65 % случаев (13 чел.), 46 % из которых зарегистрированы в конце 1-й минуты реперфузионного периода, т. е. реже ($p = 0,023$), чем в группе здоровых добровольцев. У 7 (35 %) человек, в отличие от здоровых лиц ($p = 0,015$), наблюдали фактически одинаково выраженное снижение максимальной систолической линейной и систолической объемной скоростей кровотока (V_{as} и Q_{as}) на протяжении всего реперфузионного периода, что связано с развитием у этих пациентов парадоксальных реакций. В реперфузионном периоде через 1 мин после декомпрессии плечевой артерии систолические линейная и объемная скорости кровотока (V_{as} и Q_{as}) увеличились на 33,3 %, $p < 0,05$ (в норме – на 43,8 и 43,5 % соответственно), а средние линейная и объемная скорости (V_{am} и Q_{am}) – на 21,7 и 23,5 % (в норме – на 36 %) (табл. 4).

После применения комплексного лечения с использованием ВЛОК и нейрамина количество парадоксальных реакций уменьшилось с 35 до 5 %. Число наблюдений с адекватными по направленности реакциями сосудов, зарегистрированными в конце 1-й минуты реперфузионного периода, возросло от 46 до 77 %. Улучшение функционального состояния сосудистого эндотелия у пациентов с ДЭ 2-й основной группы проявилось возрастанием скоростных показателей кожного кровотока в реперфузионном периоде до значений, сопоставимых с реактивностью микрососудов кожных покровов, наблюдаемых у здоровых лиц, которые колебались в течение 3 мин после декомпрессии плечевой артерии от 26,2 до 52 % ($p = 0,0046–0,00001$) (табл. 4).

Таблица 4. Динамика показателей кожной МГД (в % к исходным значениям) в период декомпрессии у пациентов с ДЭ и адекватными сосудистыми реакциями 2-й основной группы при выполнении теста реактивной гиперемии до и после лечения (Ме – 25–75 процентиля, $n = 13$)

Время	Показатель УЗДГ			
	Vas, %	Vam, %	Qas, %	Qam, %
<i>До лечения</i>				
1-я минута	33,3 (0; 37,5) $p = 0,0015$	21,7 (-7,2; 53,5) $p = 0,019$	33,3 (11; 37,3) $p = 0,0007$	23,5 (-6,5; 53,3) $p = 0,007$
2-я минута	21,4 (0; 50) $p = 0,011$	10,9 (-3; 43,2) $p = 0,024$	28,4 (0; 49,7) $p = 0,009$	10,9 (-3; 42,7) $p = 0,024$
3-я минута	13,3 (0; 33)	11,7 (-5,2; 40,1)	13,3 (0; 33,3)	11,8 (-15,4; 41,1)
4-я минута	33,3 (0; 42,8) $p = 0,019$	9,9 (-14,4; 34,8) $p = 0,08$	33,3 (0; 42,6) $p = 0,01$	9,9 (-14,2; 34,7) $p = 0,08$
5-я минута	6,7 (0; 33,3)	2,2 (-14,5; 23,9)	6,7 (0; 33,3)	2,7 (-14,5; 23,8)
<i>После лечения</i>				
1-я минута	35,4 (8,3; 57,1) $p = 0,00001$	43 (-9,5; 72,9) $p = 0,0046$	35,3 (8,3; 56,9) $p = 0,00001$	48,3 (-2,6; 75,8) $p = 0,0003$
2-я минута	28,6 (0; 50) $p = 0,001$	26,3 (-3,9; 64,5) $p = 0,002$	28,3 (0; 50) $p = 0,002$	26,2 (-3,7; 64,5) $p = 0,002$
3-я минута	42,8 (0; 57,1) $p = 0,0001$ $p_1 = 0,07$	41,6 (3,1; 92,6) $p = 0,0003$	42,6 (0; 56,9) $p = 0,0001$	52 (3,3; 95,6) $p = 0,0002$ $p_1 = 0,05$
4-я минута	36,9 (9,1; 83,4) $p = 0,00007$	22,3 (-17,4; 80) $p = 0,006$	36,9 (9,1; 83,1) $p = 0,00005$	25,4 (-16,4; 110) $p = 0,003$
5-я минута	14,3 (0; 66,7) $p = 0,001$	25,6 (-14,4; 71,6) $p = 0,001$ $p_1 = 0,028$	13,4 (0; 66,7) $p = 0,002$	25,6 (-14,4; 71,4) $p = 0,001$ $p_1 = 0,03$

Примечание. p_1 – различия статистически значимы в сравнении с показателями до лечения.

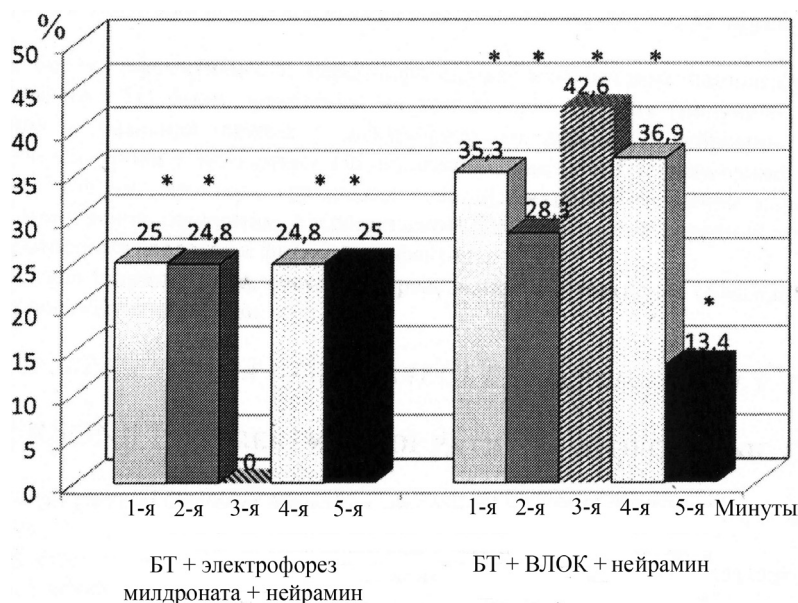


Рис. 3. Сравнительный анализ динамики Qas при выполнении теста реактивной гиперемии до и после лечения пациентов с I стадией ДЭ в обеих основных группах

На рис. 3 проиллюстрированы результаты сравнительного анализа динамики систолической объемной скорости кожного кровотока (Q_{as}) при выполнении теста реактивной гиперемии до и после комплексного лечения пациентов с I стадией ДЭ 1-й и 2-й основных групп. Согласно этим результатам, в обеих группах наблюдалось улучшение вазомоторной функции эндотелия, при этом у пациентов, получавших БТ + ВЛОК + нейрамин, по сравнению с пациентами, получавшими БТ + электрофорез милдроната + нейрамин, отмечалась тенденция к преобладанию прироста скорости кровотока (статистически значимых различий между группами не выявлено).

Заключение. У пациентов с ДЭ I стадии на момент госпитализации установлены метаболические изменения с повышением соотношения Л/П, снижением активности СОД и накоплением вторичных продуктов ПОЛ, что в целом ускоряет апоптоз нервных и эндотелиальных клеток при ХИМ. В большинстве случаев при выполнении теста реактивной гиперемии на фоне выявленных биохимических нарушений наряду с формированием у ряда пациентов парадоксальных сосудистых реакций зарегистрированы адекватные по направленности, но сниженные по величине и длительнолатентные реакции сосудов микрогемодиализаторного русла кожных покровов. Это свидетельствует о снижении сосудистой реактивности у пациентов с ХИМ в связи с развитием дисфункции эндотелия уже на I стадии заболевания.

Включение в комплексное лечение пациентов с I стадией ДЭ атеросклеротического генеза электрофореза милдроната приводит к адекватной коррекции углеводно-энергетического обмена и к уменьшению интенсивности ПОЛ, что способствует благоприятному течению у них процессов саногенеза. После использования курса ВЛОК и нейрамина на фоне БТ у пациентов с ДЭ смешанного генеза отмечается улучшение метаболических процессов в виде снижения соотношения Л/П и нормализации активности СОД, улучшения про-, антиоксидантного равновесия в крови. В то же время у пациентов контрольной группы, получавших базисную медикаментозную терапию, не в полной мере активизируются метаболические механизмы, которые способны нормализовать энергетические и свободнорадикальные нарушения в крови. Позитивная динамика биохимических процессов сопровождалась значительным улучшением вазомоторной функции эндотелия в обеих основных группах, при этом у пациентов, получавших БТ + ВЛОК + нейрамин, по сравнению с пациентами, получавшими БТ + электрофорез милдроната + нейрамин, отмечалась тенденция к преобладанию прироста скорости кровотока (статистически значимых различий между группами не выявлено).

Таким образом, в зависимости от генеза ХИМ комплексное лечение пациентов с I стадией ДЭ позволяет сбалансировать углеводно-энергетический обмен в клетке, уменьшить активацию ПОЛ, снизить количество парадоксальных сосудистых реакций и улучшить вазомоторную функцию эндотелия, что, в свою очередь, снижает выраженность церебральных расстройств.

Список использованной литературы

1. Компенсированная форма хронической ишемии мозга у пациентов старшего возраста / Е. И. Гусев [и др.] // Журн. неврол. и психиатр. Инсульт. – 2006. – № 16. – С. 23–31.
2. Бурцев, Е. М. Дисциркуляторная (сосудистая) энцефалопатия / Е. М. Бурцев // Журн. неврол. и психиатр. – 1998. – Т. 98, № 1. – С. 45–48.
3. Гусев, Е. И. Семакс в профилактике прогрессирования и развития обострений у больных с дисциркуляторной энцефалопатией / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова, Е. И. Чуканова // Журн. неврологии и психиатрии им. Корсакова. – 2005. – № 2. – С. 35–39.
4. Дисциркуляторная энцефалопатия: метод. рекомендации / под ред. Н. Н. Яхно. – М., 2002. – 32 с.
5. Chronic cerebral hypoperfusion and impaired neuronal function in rats / L. H. Sekhon [et. al.] // Stroke. – 1994. – Vol. 25, N 5. – P. 1022–1027.
6. Ultrastructural concomitants of anoxic injury and early post-anoxic recovery in rat optic nerve / S. G. Waxman [et al.] // Brain Res. – 1992. – Vol. 574, N 1–2. – P. 105–119.
7. Hachinski, V. C. Leuko-araiosis / V. C. Hachinski, P. Potter, H. Merskey // Arch. Neurol. – 1987. – Vol. 44, N 1. – P. 21–23.
8. Ганушкина, И. В. Гипертоническая энцефалопатия / И. В. Ганушкина, Н. В. Лебедева. – М., 1987. – С. 197–207.
9. Антиоксидантная терапия у больных дисциркуляторной энцефалопатией, отягощенной сахарным диабетом типа 2 / 3. А. Суслина [и др.] // Фарматека. – 2005. – № 12 (107). – С. 66–69.

10. Активность внутриклеточных антиоксидантных ферментов у больных гипертонической болезнью / С. А. Ельчанинова [и др.] // Тер. архив. – 2000. – Т. 72, № 4. – С. 51–53.
11. Активные формы кислорода и их роль в организме / А. Н. Осипов, О. А. Азизова, Ю. В. Владимиров // Успехи биол. химии. – 1990. – Т. 31. – С. 180–208.
12. Козловский, В. И. Гипертоническая энцефалопатия / В. И. Козловский, Ю. В. Алексеенко // Здоровоохранение. – 1995. – № 9. – С. 37–39.
13. Лазерная гемотерапия при ишемических цереброваскулярных заболеваниях (экспериментальные и клинические аспекты) / Н. И. Нечипуренко [и др.] – Минск: Бизнесофсет, 2010. – 192 с.
14. Шкала количественной оценки выраженности хронической цереброваскулярной недостаточности / С. А. Лихачев [и др.] // Мед. новости – 2009. – № 12. – С. 78–82.
15. Комплексная оценка эффективности лечения пациентов с невралгией тройничного нерва / Н. И. Нечипуренко [и др.] // Вес. НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2015. – № 3. – С. 5–13.

Поступила в редакцию 24.02.2016

УДК 577.1:612.111.7

Е. А. ОРЛОВА¹, О. А. ЛАЗАРЧУК², С. А. КОНДРАШЕВ¹

**ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС И АГРЕГАЦИОННАЯ ФУНКЦИЯ
КОНСЕРВИРОВАННЫХ ТРОМБОЦИТОВ В АЛЬТЕРНАТИВНЫХ
СУСПЕНДИРУЮЩИХ СРЕДАХ**

¹*Луганский государственный медицинский университет, Рубежное, Украина, e-mail: lenfleur@mail.ru*

²*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь, e-mail: okslaza@mail.ru*

Изучены изменения энергетического обмена и агрегационной активности консервированных тромбоцитов при хранении и влияние на них суспендирующих сред разного состава. Установлено, что в течение 3 сут обмен адениловых нуклеотидов протекает с превалированием энергозависимых процессов в клетках с сохранением энергетических показателей, к концу срока консервации отмечен дефицит АТФ, переход на анаэробный гликолиз и снижение агрегационной активности тромбоцитов. Модифицирование суспендирующей среды аминокислотами повышает качество тромбоконцентрата.

Ключевые слова: консервированные тромбоциты, адениловые нуклеотиды, энергетические показатели, агрегация, суспендирующая среда.

Y. A. ORLOVA¹, O. A. LAZARCHUK², S. A. KONDRASHEV¹

**ENERGY STATUS AND AGGREGATION FUNCTION OF PRESERVED PLATELETS
IN ALTERNATIVE SUSPENDING MEDIA**

¹*Lugansk State Medical University, Rubezhnoe, Ukraine, e-mail: lenfleur@mail.ru*

²*Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus, e-mail: okslaza@mail.ru*

The research is devoted to studying the changes in energy metabolism and the aggregation activity of preserved platelets during storage and the influence of suspending environment of different composition on them. It is established that during 3 days the exchange of adenine nucleotides occurs with the energy-dependent processes dominant in cells when energy indicators are converted. The deficit of ATP, the transition to anaerobic glycolysis and the reduction in the aggregation activity of platelets are marked by the end of the conservation term. The modification of suspending environment by amino acids improves the platelet quality.

Keywords: preserved platelets, adenine nucleotides, energy indicators, aggregation, suspending environment.

Введение. Консервированные тромбоциты – необходимый элемент коррекции тромбоцитопении разного генеза, в первую очередь в онкологической и гематологической практике [1]. Возможность применения трансфузий донорских тромбоцитов позволяет осуществлять пересадку костного мозга, использовать агрессивные виды химио- и лучевой терапии. Без применения трансфузий консервированных тромбоцитов виды современного лечения онкологических и гематологических заболеваний невозможны, а прогноз для пациентов менее благоприятен.

Донорская кровь – ограниченный национальный ресурс [2], поэтому актуальной является разработка новых суспендирующих растворов для клеток крови, способных эффективно, долгосрочно сохранять функциональную активность, физико-химические свойства и оптимальную жизнеспособность. Одним из направлений улучшения качества тромбоконцентрата является конструирование суспендирующих тромбоцитов растворов с целью увеличения срока сохранности их биохимической и функциональной активности. Условия консервирования донорских тромбоцитов также должны быть рассчитаны на продолжительное сохранение их оптимальной жизнеспособности и функций [3].

На сегодня имеется незначительное количество консервантов, отвечающих этим требованиям, разработки в этой области имеют большую вариабельность результатов [4–6]. Не изучено в достаточной степени протекание процессов энергетического обмена в консервированных тромбоцитах, взаимодействие кровяных пластинок с биологически активными соединениями суспендирующей среды.

Известно, что при «старении» тромбоконцентрата в кровяных пластинках прогрессируют митохондриальные нарушения [7]. Поскольку адениловый пул (Σ АН – АТФ + АДФ + АМФ) является интегральным показателем энергетического баланса и отражает состояние функционального равновесия энергозависимых синтетических и катаболических реакций, протекающих в клетке, проанализированы его изменения в процессе хранения тромбоцитов.

Цель работы – установить состояние энергетического обмена и способность к агрегации тромбоцитов донорской крови при их хранении в различных суспендирующих средах, проанализировать вклад суспендирующей среды в сохранение функциональной активности консервированных тромбоцитов.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили на тромбоцитах, выделенных из венозной крови группы 0(I) доноров мужчин в возрасте 20–36 лет. Из свежезаготовленной консервированной крови по стандартному протоколу [8, 9] выделяли концентрат тромбоцитов методом мануального тромбоцитафереза. Одна доза тромбоцитов содержала от $(293,62 \pm 18,78) \cdot 10^9$ /л до $(413,92 \pm 28,89) \cdot 10^9$ /л клеток.

Образцы для исследования отбирали в асептических условиях с учетом минимизации адгезии кровяных пластинок (был исключен их контакт с лабораторным стеклом). Для хранения консервированных тромбоцитов использовали контейнеры из поливинилхлорида с гемоконсервантом «СРДА-1» производства ZPSM “RAVIMED” (Польша).

Тромбоконцентрат был поделен на 4 группы образцов. Образцы состояли из тромбоцитов, помещенных в 100 %-ную аутологичную плазму (группа 1); в 100 %-ную аутологичную плазму с добавлением аминокислот (раствор для инфузий «Нефротект», Австрия) (группа 2); в 20 %-ную аутологичную плазму с раствором SSP+ (Франция) (группа 3); в 20 %-ную аутологичную плазму с раствором SSP+ и добавлением аминокислот (группа 4).

Образцы инкубировали в течение 5 сут при $t = 22,0 \pm 0,2$ °С в настольном устройстве для хранения тромбоцитов PC 100 (HELMER LABS, США). Тестирование образцов в течение всего срока хранения осуществляли ежедневно.

Разделение адениловых нуклеотидов АТФ, АДФ, АМФ проводили методом тонкослойной хроматографии с использованием системы растворителей: диоксан–изопропанол–вода–аммиак (4:2:4:1). Осадок тромбоцитов смешивали с равным объемом 0,8 М кислоты хлористоводородной и центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 мин. Супернатант нейтрализовали 2 М раствором K_2CO_3 (5:1) и в объеме 0,1 мл наносили на пластину для хроматографии (Sorbfil, Россия). Пятна нуклеотидов детектировали под ультрафиолетовым светом, элюировали с пластин при помощи 0,1 М кислоты хлористоводородной в течение 20 мин. Абсорбцию элюата определяли при $\lambda = 260$ нм.

Показатели, характеризующие состояние энергетического обмена, рассчитывали по следующим формулам: $\Sigma Z = [ATP] + 1/2[ADP]/[ATP] + [ADP] + [AMP]$; $IF = [ATP]/[ADP] + [AMP]$; $TKD = [ADP]/[AMP]$; $K_{cp} = [ATP] + [AMP]/[ADP]$; $\Sigma P = [ATP]/[ADP]$ [10], где ΣZ – энергетический заряд, IF – индекс фосфорилирования, TKD – термодинамический контроль дыхания, K_{cp} – коэффициент сравнения, ΣP – энергетический потенциал.

Концентрацию фосфора неорганического (P_n) определяли в инкубате при помощи наборов «Филист-Диагностика» (Украина), активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ 1.1.1.27) во взвешивающей тромбоциты среде – с использованием диагностического набора «ЛДГ» («Филисит-диагностика», Украина), агрегационную активность тромбоцитов – при помощи анализатора агрегации тромбоцитов AP 2110 (SOLAR, Беларусь). В качестве индукторов агрегации тромбоцитов использовали растворы коллагена и АДФ («Технология-стандарт», Россия). К исследуемым образцам объемом 0,45 мл добавляли 0,05 мл раствора агониста, запись агрегатограмм проводили в течение 10 мин.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли при помощи компьютерной программы Microsoft office 2010 Professional Plus (собственник лицензии ГЗ «Луганский государственный медицинский университет») с использованием непараметрического *U*-критерия Манна–Уитни.

Результаты и их обсуждение. Известно, что при «старении» тромбоконцентрата в кровяных пластинках прогрессируют митохондриальные нарушения [8], которые коррелируют с фазовыми изменениями в содержании компонентов аденин-нуклеотидного пула. В связи с этим были проанализированы изменения энергетического обмена в консервированных тромбоцитах в процессе хранения.

Как показали результаты исследования (табл. 1), в 1-е сутки наблюдения уровни АТФ и Σ АН (сумма адениловых нуклеотидов) были наивысшими у образцов группы 4, в группах 1–3 данные показатели были несколько ниже. Наибольшее содержание АДФ было в тромбоцитах группы 2, а АМФ – в группе 4.

Т а б л и ц а 1. Содержание адениловых нуклеотидов, фосфора неорганического (P_n) в тромбоконцентрате при хранении ($M \pm m, n = 10$)

Группа образцов	Показатели состояния пула адениловых нуклеотидов	Период хранения				
		1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки	4-е сутки	5-е сутки
1	Внутриклеточный компартмент:					
	Σ АН	503,00 ± 37,00	497,80 ± 33,00	482,00 ± 42,00*	468,60 ± 55,00*	446,00 ± 38,00*
	АТФ, моль/л	278,60 ± 39,00	272,40 ± 33,00	258,00 ± 39,00*	232,40 ± 38,00*	208,20 ± 34,00*
	АДФ, моль/л	136,80 ± 11,00	135,40 ± 7,00	129,60 ± 8,00*	128,40 ± 14,00*	125,40 ± 7,00*
	АМФ, моль/л	8,760 ± 0,14	9,00 ± 0,18	9,44 ± 0,16,00*	10,78 ± 0,10*	11,24 ± 0,08*
Внеклеточный компартмент:	P_n , ммоль/л	3,614 ± 0,134	3,540 ± 0,135	3,028 ± 0,235*↓	3,415 ± 0,127	3,471 ± 0,178
	2	Внутриклеточный компартмент:				
	Σ АН	531,40 ± 72,00	516,40 ± 39,00*	509,20 ± 39,00*	497,60 ± 38,00*	475,20 ± 29,00*
	АТФ, моль/л	288,40 ± 48,00	276,40 ± 39,00*	265,40 ± 34,00*	244,80 ± 39,00*	220,80 ± 28,00*
	АДФ, моль/л	147,40 ± 13,00	142,00 ± 14,00*	138,40 ± 10,00*	133,20 ± 20,00*	129,00 ± 7,00*
	АМФ, моль/л	9,56 ± 0,19	9,80 ± 0,14	10,54 ± 0,08*	12,04 ± 0,08*	12,44 ± 0,09*
	Внеклеточный компартмент:	P_n , ммоль/л	3,485 ± 0,599	3,413 ± 0,133	2,890 ± 0,239*	3,325 ± 0,180
3	Внутриклеточный компартмент:					
	Σ АН	501,40 ± 12,00	499,80 ± 27,00	485,60 ± 46,00*	487,60 ± 32,00*	442,80 ± 42,00*
	АТФ, моль/л	280,00 ± 35,00	278,40 ± 27,00	260,00 ± 41,00*	236,00 ± 32,00*	218,20 ± 3,003*
	АДФ, моль/л	128,00 ± 14,00	127,40 ± 22,00	118,00 ± 9,00*	119,60 ± 9,00*	111,80 ± 14,00*
	АМФ, моль/л	9,34 ± 0,20	9,40 ± 0,22	10,76 ± 0,08*	11,30 ± 0,09*	11,84 ± 0,07*
Внеклеточный компартмент:	P_n , ммоль/л	2,492 ± 0,158	2,230 ± 0,316	1,523 ± 0,265*	2,508 ± 0,502*	2,511 ± 0,448
	4	Внутриклеточный компартмент:				
Σ АН		532,60 ± 13,00	528,20 ± 11,00*	522,20 ± 29,00*	519,20 ± 23,00*	488,4 ± 41,00*
АТФ, моль/л		303,80 ± 17,00	301,40 ± 25,00*	297,20 ± 18,00*	286,00 ± 33,00*	256,0 ± 29,00*
АДФ, моль/л		130,80 ± 11,00	128,40 ± 20,00*	128,20 ± 15,00*	122,80 ± 17,00*	114,8 ± 11,00*
АМФ, моль/л		9,80 ± 0,22	9,84 ± 0,14*	11,22 ± 0,07*	11,76 ± 0,17,00*	12,50 ± 0,19*
Внеклеточный компартмент:	P_n , ммоль/л	2,373 ± 0,340	2,347 ± 0,427	1,420 ± 0,190*	2,400 ± 0,476	2,427 ± 0,446

Примечание. * – результаты достоверны ($p < 0,05$) по сравнению с 1-ми сутками наблюдения. То же в табл. 2, 3.

Для выявления способности кровяных пластинок к выполнению энергозависимых процессов определяли ЭЗ, который в образцах всех групп имел значения в интервале 0,68–0,69 (табл. 2). Известно, что для большинства клеток *in vitro* данный показатель составляет 0,85–0,95. Полученные нами данные можно объяснить перемещением донорских тромбоцитов в искусственную среду и развитием реакции активации.

Во внеклеточной среде тромбоконцентрата исследовали уровень P_n как метаболита дефосфорилирования адениловых нуклеотидов. Содержание P_n во взвешивающей среде образцов групп 3 и 4 было более низким, несмотря на его избыток в растворе SSP+ по сравнению с донорской плазмой.

Т а б л и ц а 2. Энергетические показатели на этапах хранения концентрата тромбоцитов ($M \pm m, n = 10$)

Группа образцов	Энергетические показатели	Период хранения				
		1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки	4-е сутки	5-е сутки
1	Энергетический заряд ЭЗ	0,690 ± 0,013	0,683 ± 0,013	0,670 ± 0,013	0,633 ± 0,002*↓	0,607 ± 0,003*↓
	Энергетический потенциал ЭП	2,037 ± 0,027	2,012 ± 0,025	1,991 ± 0,036	1,810 ± 0,022*↓	1,660 ± 0,028*↓
	Индекс фосфорилирования ИФ	1,242 ± 0,018	1,209 ± 0,018	1,152 ± 0,018	0,984 ± 0,009*↓	0,876 ± 0,015*↓
	Сравнительный коэффициент K_{cp}	2,686 ± 0,038	2,677 ± 0,033	2,650 ± 0,046	2,557 ± 0,030*↓	2,205 ± 0,028*↓
	Термодинамический контроль дыхания ТКД	1,564 ± 0,038	1,508 ± 0,038	1,375 ± 0,030	1,191 ± 0,017*↓	1,116 ± 0,003*↓
2	Энергетический заряд ЭЗ	0,682 ± 0,012	0,681 ± 0,004	0,657 ± 0,012	0,626 ± 0,003*↓	0,601 ± 0,003*↓
	Энергетический потенциал ЭП	2,884 ± 0,048	2,764 ± 0,039	2,754 ± 0,034	2,448 ± 0,039*↓	2,208 ± 0,028*↓
	Индекс фосфорилирования ИФ	1,187 ± 0,011	1,183 ± 0,017	1,080 ± 0,013	0,965 ± 0,014*↓	0,868 ± 0,013*↓
	Сравнительный коэффициент K_{cp}	2,742 ± 0,038	2,684 ± 0,018	2,656 ± 0,034	2,605 ± 0,042*↓	2,595 ± 0,036*↓
	Термодинамический контроль дыхания ТКД	1,562 ± 0,013	1,546 ± 0,036	1,514 ± 0,016	1,107 ± 0,012*↓	1,045 ± 0,009*↓
3	Энергетический заряд ЭЗ	0,686 ± 0,012	0,686 ± 0,010	0,657 ± 0,012	0,620 ± 0,003*↓	0,619 ± 0,003*↓
	Энергетический потенциал ЭП	2,189 ± 0,043	2,277 ± 0,049	2,205 ± 0,049	1,771 ± 0,019*↓	1,953 ± 0,036*↓
	Индекс фосфорилирования ИФ	1,266 ± 0,030	1,288 ± 0,028	1,252 ± 0,020	0,938 ± 0,014*↓	0,971 ± 0,015*↓
	Сравнительный коэффициент K_{cp}	3,046 ± 0,044	3,017 ± 0,058	2,964 ± 0,060	2,919 ± 0,016*↓	2,661 ± 0,044*↓
	Термодинамический контроль дыхания ТКД	1,373 ± 0,033	1,305 ± 0,034	1,297 ± 0,034	1,125 ± 0,014*↓	0,989 ± 0,010*↓
4	Энергетический заряд ЭЗ	0,681 ± 0,011	0,688 ± 0,014	0,673 ± 0,011	0,649 ± 0,013*↓	0,642 ± 0,013*↓
	Энергетический потенциал ЭП	2,399 ± 0,083	2,358 ± 0,055	2,422 ± 0,033	2,234 ± 0,050	2,230 ± 0,025
	Индекс фосфорилирования ИФ	1,130 ± 0,038	1,114 ± 0,029	1,265 ± 0,011	1,102 ± 0,021*↓	1,074 ± 0,010*↓
	Сравнительный коэффициент K_{cp}	3,254 ± 0,071	3,209 ± 0,057	3,166 ± 0,043	3,153 ± 0,059*↓	3,138 ± 0,012*↓
	Термодинамический контроль дыхания ТКД	1,223 ± 0,030	1,259 ± 0,014	1,095 ± 0,012	1,026 ± 0,012*↓	0,936 ± 0,049*↓

Можно предположить, что в момент перемещения тромбоцитов *ex vivo* → *in vitro* неорганический фосфор более активно вовлекается в процесс ресинтеза АТФ и АДФ в группах образцов со средой SSP+.

На 2-е сутки хранения тромбоконцентрата в образцах групп 2 и 4 наблюдалось достоверное снижение концентрации Σ АН, АТФ и АДФ, в группах 1 и 3 – тенденция к уменьшению этих показателей. Содержание АМФ во всех группах недостоверно повышалось, а P_n – снижалось. Такие показатели в образцах всех групп, как ЭЗ, ЭП, ИФ, ТКД и K_{cp} , не изменялись.

На 3-и сутки хранения во всех образцах наблюдалось достоверное понижение содержания суммы адениловых нуклеотидов, АТФ и АДФ, в основном за счет АТФ: Σ АН – в среднем на 3,4 %, АТФ – в среднем на 6,5, АДФ – в среднем на 6,3 %. Следует отметить, что наименьшие изменения наблюдались у образцов группы 4. При этом отмечено накопление АМФ с увеличением концентрации на 7,8; 10,3; 15,2; 14,5 % для образцов групп 1, 2, 3 и 4 соответственно. Изменения адениловых показателей приводили к недостоверному снижению как энергетического заряда тромбоцитов, так и других энергетических показателей. Как известно [9], энергетический заряд является фундаментальным параметром, который отражает количество макроэргических связей АТФ и АДФ в пуле адениловых нуклеотидов и контролирует энергетическое состояние клетки. Повышение энергетического заряда вызывает активацию ферментов, которые утилизируют АТФ, образуют АДФ или АМФ, и инактивацию реакций противоположного характера. Уменьшение же энергетического заряда, наоборот, сопровождается активацией синтеза АТФ и инактивацией ее распада. Следовательно, 3-и сутки хранения характеризуются поддержанием постоянной величины энергетического заряда благодаря сохранению в кровяных пластинках равновесия между адениловыми нуклеотидами.

Установлено достоверное снижение в инкубатах образцов всех групп концентрации P_n и увеличение ИФ, что может быть связано с интенсификацией фосфорилирования. Одним из видов этого процесса является посттрансляционная модификация белка, а также получение активных коферментных форм, запуск гликолиза, фосфорилирование АДФ с запасанием энергии в форме АТФ для ее последующего расходования и ряд других реакций.

На 3-и сутки хранения преобладают синтетические процессы, связанные с делением тромбоцитов, что установлено нами при проведении морфологического исследования [11].

К 4-м суткам наблюдения в образцах всех групп продолжала уменьшаться концентрация суммарных макроэргов за счет АТФ и АДФ, а концентрация АМФ – увеличиваться. Энергетический заряд в их клетках уменьшался. Наблюдалось достоверное повышение концентрации P_n во внеклеточном компартменте образцов всех групп по сравнению с таковой на 3-и сутки. Это отразилось на показателе индекса фосфорилирования, который достоверно понизился, остальные показатели энергообмена имели тенденцию к снижению.

К концу срока наблюдения во всех образцах исследуемых тромбоцитов также достоверно понижались концентрации АТФ и АДФ, а содержание АМФ повышалось. Одновременное снижение уровней АТФ и АДФ с накоплением АМФ может указывать на нарушение синтеза АТФ в дыхательной цепи вследствие разъединения процессов окисления и фосфорилирования. Так, уровень АТФ в группе 1 понизился на 25,3 %, в группе 2 – на 23,4, в группе 3 – на 22,1, в группе 4 – на 15,7 %. Уровень АДФ уменьшился на 8,3; 11,8; 12,7 и 12,2 % соответственно. Содержание АМФ повысилось на 28,3; 30,1; 21,0 и 9,5 % соответственно.

Уменьшилась степень заполнения системы АТФ–АДФ–АМФ высокоэнергетическими фосфатными связями: ЭЗ понизился в образцах группы 1 на 12,0 %, в группе 2 – на 11,9, в группе 3 – на 9,8, в группе 4 – на 5,7 %. Снизилась скорость дыхания в митохондриях: ЭП уменьшился в образцах групп 1, 2, 3 на 18,5; 23,4; 10,8 % соответственно, в группе 4 – на 7,0 %; ТКД в группах 1, 2, 3, 4 снизился относительно исходного значения на 28,7; 33,1; 28,0 и 23,5 % соответственно. Нарастающий дисбаланс соотношения макроэргических фосфатов сопровождался снижением индекса фосфорилирования: в группах 1, 2, 3, 4 – на 24,0; 19,6; 22,4; 5,0 % соответственно. Динамика изменения содержания P_n во взвешивающей тромбоциты среде после 3-х суток указывала на постепенный его выход в инкубат до исходного уровня, что может быть связано с деструкцией тромбоцитов на поздних сроках хранения.

Исходя из полученных результатов, наиболее благоприятными для сохранности/ресинтеза макроэргических соединений консервированных тромбоцитов были условия раствора SSP+ с добавлением аминокислот.

Одним из прогностических признаков нарушения энергетического обмена клеток и внутриклеточного метаболизма является активность лактатдегидрогеназы. Согласно результатам многочисленных исследований, повышение активности энзима в клетках крови является показателем снижения интенсивности энергетического обмена и компенсаторной активации анаэробного гликолиза [12].

Активность ЛДГ в исследуемых образцах зависит от исходного уровня данного энзима в крови доноров, так как его присутствие в плазме связано с гетерогенностью популяций клеток крови человека (наличием форменных элементов, так называемых «старых» клеток, и высокой степенью дезинтеграции). В 1-е сутки активность ЛДГ в образцах групп 1 и 2 соответствовала нижнему значению физиологического диапазона (225–450 ед. акт/л), в группах 3 и 4 была ниже этих значений (табл. 3), что связано с разведением крови донора в момент ее консервирования, а для последних двух групп – с незначительным количеством донорской плазмы (20 %) во взвешивающей среде.

Таблица 3. Динамика активности лактатдегидрогеназы (ед. акт/л) во взвешивающей тромбоциты среде ($M \pm m, n = 10$)

Сутки наблюдения	Группа образцов			
	1	2	3	4
1-е	233,22 ± 31,27	231,35 ± 27,53	139,68 ± 27,65	135,39 ± 26,67
2-е	284,46 ± 34,39	234,52 ± 22,60	125,06 ± 24,91	138,04 ± 28,29
3-и	299,94 ± 44,65	251,13 ± 21,08	142,75 ± 28,89	146,35 ± 27,12
4-е	303,62 ± 47,87	253,77 ± 29,82	181,24 ± 35,17	151,77 ± 19,01
5-е	348,02 ± 40,39*	263,11 ± 27,84	274,55 ± 30,42*	160,23 ± 17,64

В процессе хранения взвеси тромбоцитов выявлено повышение активности энзима. В образцах групп 2 и 4 отмечена тенденция к увеличению активности ЛДГ, а в группах 1 и 3 – достоверное ее повышение к 5-м суткам. Повышение активности ЛДГ в суспендирующей среде в течение всего срока хранения указывает на переход энергосистемы клеток на менее эффективный анаэробный путь, приводящий к накоплению лактата.

Влияние компонентов суспендирующей среды образцов групп 2 и 4 (аминокислот, глюкозы, фосфора неорганического, магния) способствует большей стабильности энергетических показателей, а следовательно, сохранности биохимической и функциональной активности консервированных клеток.

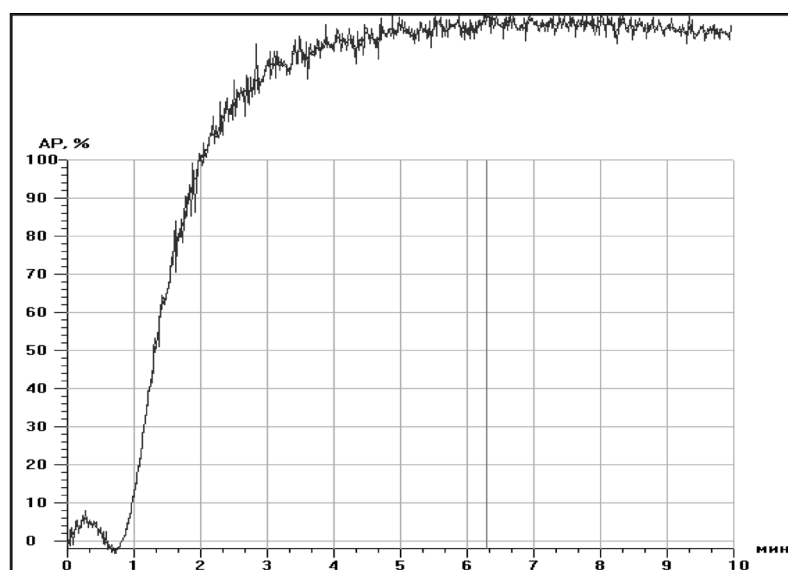
В процессе приготовления тромбоконцентрата клетки подвергаются механическим воздействиям (центрифугированию, ручной обработке, ресуспендированию), которые могут их активировать или повреждать, изменяя метаболические процессы (в сравнении с условиями *in vivo*). Все это может стать причиной снижения функциональной активности и гемостатического потенциала тромбоцитов, отразиться на результатах консервирования и эффективности трансфузий тромбоконцентрата [13].

Для определения агрегационной активности тромбоцитов на этапах хранения тромбоконцентрата и влияния на нее суспендирующей среды использовали агонисты коллаген и АДФ.

Коллаген вызывает агрегацию тромбоцитов с выраженным латентным периодом перед единственной фазой агрегации (см. рисунок).

В 1-е сутки (табл. 4) степень агрегации в образцах групп 1 и 2 превышала референтные значения (50–70 %), что свидетельствовало о повышенной реакции тромбоцитов на индуктор. Возможно, это обусловлено повышенным содержанием глюкозы во взвешивающей клетки среде [13, 14]. В образцах групп 3 и 4 степень агрегации была в 2 раза ниже, так как в состав инкубата входил магний (ингибитор агрегации), а концентрация глюкозы была в 3 раза меньше, чем в группах 1 и 2.

На 2-е сутки в образцах групп 1–3 наблюдалось понижение степени и скорости агрегации тромбоцитов, что подтверждает угнетение реакции высвобождения факторами суспендирующей среды. Для тромбоконцентрата образцов группы 4 наметилась тенденция к понижению показателей. Установлено достоверное снижение степени и скорости агрегации образцов в группах 1, 2 (к 3-м суткам) и 3 (к 4-м суткам) по сравнению с таковыми на 2-е и 3-и сутки. Такую динамику функциональной активности тромбоцитов можно связать с наметившимися к 3-м суткам изменениями в энергетическом обмене. Тромбоциты, содержащие раствор SSP+ с аминокислотами (группа 4), имели более высокие показатели степени и скорости агрегации, достоверно понижавшиеся лишь на 5-е сутки.



Агрегационная кривая на примере образцов группы 1 в 1-е сутки, индуктор – коллаген

Таблица 4. Агрегационная активность тромбоцитов, индуцированная коллагеном ($M \pm m, n = 10$)

Сутки хранения	Группа образцов											
	1			2			3			4		
	Степень агрегации, %	Скорость агрегации, %/мин	Время агрегации, мин	Степень агрегации, %	Скорость агрегации, %/мин	Время агрегации, мин	Степень агрегации, %	Скорость агрегации, %/мин	Время агрегации, мин	Степень агрегации, %	Скорость агрегации, %/мин	Время агрегации, мин
1-е	74,64 ± 8,37	77,84 ± 6,63	6,42 ± 1,73	76,38 ± 8,32	75,48 ± 6,87	10,33 ± 1,64	35,10 ± 5,54	45,64 ± 3,30	9,64 ± 3,24	35,74 ± 5,07	45,84 ± 5,39	9,84 ± 3,03
2-е	57,08 ± 4,93*	54,64 ± 4,78*	5,90 ± 1,52	54,30 ± 3,74*	58,80 ± 4,20*	9,24 ± 1,16	25,2 ± 6,35*	34,44 ± 3,78*	9,54 ± 3,18	27,74 ± 5,54	44,20 ± 3,62	7,97 ± 2,39
3-и	37,16 ± 5,71*,*	34,20 ± 4,37*,**	5,08 ± 2,06	35,02 ± 6,48*,**	35,32 ± 5,06**,**	8,97 ± 1,89	18,18 ± 8,04*	23,88 ± 1,44*,**	6,14 ± 2,13	27,00 ± 5,99	39,84 ± 3,03	8,55 ± 2,65
4-е	27,44 ± 3,11*,**	23,28 ± 3,51*,**	5,07 ± 2,16	28,34 ± 2,41*,**	23,68 ± 3,61*,**	5,33 ± 1,29*,**	14,76 ± 2,80*,**	23,44 ± 2,65*,**	4,56 ± 1,28*,**	25,18 ± 6,36*	36,00 ± 2,26*	6,49 ± 1,20
5-е	13,90 ± 3,78*,**	12,76 ± 1,33*,**	2,47 ± 1,18*,**	24,40 ± 3,23*,**	12,28 ± 2,90*,**	2,44 ± 0,56*,**	13,52 ± 3,35*,**	13,12 ± 2,17*,**	4,30 ± 1,56*,**	20,92 ± 5,39*,**	22,36 ± 2,91*,**	5,53 ± 1,22*

Примечание. Достоверность отличий ($p < 0,05$): * – по сравнению с 1-ми сутками; ** – по сравнению со 2-ми сутками.

В конце срока хранения агрегационная кривая образцов всех групп была однофазной, что свидетельствовало об угнетении агрегационной активности тромбоцитов.

При исследовании агрегационной способности кровяных пластинок с использованием индуктора АДФ установлена такая же динамика показателей агрегации, как и для индуктора коллагена.

Таким образом, проведенные нами исследования показали постепенное снижение основных показателей агрегационной активности тромбоцитов – степени, скорости и времени агрегации – на протяжении срока наблюдения. В 1-е сутки хранения наблюдалась повышенная агрегационная активность тромбоцитов в ответ на их перенос из физиологической среды в искусственную, на 2-е сутки – снижение активности тромбоцитов, контролируемое факторами суспендирующей среды. К 5-м суткам хранения наибольшую агрегационную активность сохраняли тромбоциты в суспендирующей среде, содержащей раствор SSP+ с 20 %-ной аутоплазмой и аминокислоты.

Выводы

1. Энергетический обмен происходит с превалированием расхода энергии, сохранением энергетических показателей, уровня P_n и активности ЛДГ к 3-м суткам. К концу срока наблюдения отмечаются дефицит АТФ, снижение ряда параметров энергетического гомеостаза в зависимости от состава суспендирующей среды.

2. Момент перемещения кровяных пластинок в искусственную среду сопряжен с их активацией, с 3-х суток отмечается снижение агрегационной активности в зависимости от состава суспендирующей среды.

3. Модифицирование суспендирующей среды путем введения аминокислот повышает качество консервированных тромбоцитов за счет поддержания энергетического гомеостаза и сохранения агрегационной функции.

Авторы статьи выражают благодарность заведующей бактериологической лаборатории Луганской областной станции переливания крови В. Я. Гусаковой за помощь в проведении исследований тромбоконцентрата донорской крови.

Список использованной литературы

1. Богдан, В. Г. Биологические эффекты тромбоцитарных концентратов в культуре фибробластов кожи человека / В. Г. Богдан, Д. А. Толстов, С. С. Багатка // Мед. журн. – 2012. – № 2. – С. 22–25.
2. Малыш, П. Н. Биохимические, структурно-функциональные и метаболические изменения консервированной крови человека в процессе хранения при позитивной температуре: дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.32 / П. Н. Малыш. – Луганск, 2007. – 337 л.

3. Варламова, С. В. Заготовка и оценка качества лечебных доз тромбоцитов / С. В. Варламова, М. М. Петров, Т. А. Балакина // Новое в гематологии и трансфузиологии. – 2006. – № 4. – С. 51–58.
4. Совершенствование получения концентрата тромбоцитов / Е. Б. Жибурт [и др.] // Вестн. службы крови России. – 2010. – № 2. – С. 22–25.
5. Кондрацький, Б. О. Нові розчини для ресуспендування еритроцитної маси / Б. О. Кондрацький, М. Й. Винарчик, Д. Л. Качмарик // Укр. хіміотер. журн. – 2008. – Т. 22, № 2. – С. 192–194.
6. Малыш, П. Н. Тромбоциты человека: оценка альтернативных взвешивающих сред для их хранения / П. Н. Малыш, С. А. Кондрашев, В. Я. Гусакова // Укр. журн. екстрем. медицини ім. Г. О. Можаява. – 2010. – Т. 11, № 3. – С. 81–85.
7. Ringwald, J. The New Generation of Platelet Additive Solution for Storage at 22 °C: Development and Current Experience / J. Ringwald, R. Zimmermann, R. Eckstein // Transfusion Med. Rev. – 2006. – Vol. 20, N 2. – P. 158–164.
8. Hayashi, T. Role of mitochondria in the maintenance of platelet function during *in vitro* storage / T. Hayashi, S. Tanaka, Y. Hori // Transfusion Medicine. – 2011. – Vol. 21, N 3. – P. 166–174.
9. Лук'янчук, В. Д. Стан енергетичного гомеостазу у шурів при застосуванні потенційного церебропротектора – ОК-3 в умовах закритої черепно-мозкової травми / В. Д. Лук'янчук, А. А. Висоцький, І. І. Сейфуліна // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2009. – Т. 10, № 3. – С. 20–27.
10. Захарова, Н. Б. Тонкослойная хроматография нуклеотидов эритроцитов на пластинках «Силуфол» / Н. Б. Захарова, В. И. Рубин // Лаб. дело. – 1980. – № 12. – С. 735–738.
11. Кондрашев, С. А. К вопросу о репродукции тромбоцитов *in vitro* / С. А. Кондрашев // Світ медицини та біології. – 2012. – Т. 41, № 1. – С. 67–71.
12. Нагорная, Н. В. Энергетический обмен клетки в норме и патологии. Возможности его оценки / Н. В. Нагорная, Н. А. Четверик, А. А. Федорова // Здоровье ребенка. – 2008. – Т. 15, № 6. – С. 69–71.
13. Коркушко, О. В. Тромбоциты: физиология, морфология, возрастные и патологические особенности, анти-тромбоцитарная терапия / О. В. Коркушко, В. Ю. Лишневская. – Киев: Медкнига, 2011. – 240 с.
14. Sudic, D. High glucose levels enhance platelet activation: involvement of multiple mechanisms / D. Sudic, M. Razmara, M. Forslund // Brit. J. of Haematol. – 2006. – Vol. 133. – P. 315–322.

УДК [616.36:611.013.85]:616.36-008.811.6-085.244]-092.9

Я. Р. МАЦЮК, О. В. БАРАБАН

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПЛАЦЕНТЫ КРЫС В ПРЕДРОДОВЫЙ ПЕРИОД ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ХОЛЕСТАЗЕ

*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь,
e-mail: matsiuk39@mail.ru, baraban.olga@tut.by*

Показано, что введение урсодезоксихолевой кислоты самкам с моделируемым на 17-й день беременности подпеченочным обтурационным холестазом существенно не влияет на ход генетически обусловленных процессов, связанных с родами, но оказывает протективный эффект не только на сосудистое звено плаценты, но и на цитохимические изменения в ее клеточных элементах.

Ключевые слова: беременность, холестаз, плацента, морфология, урсодезоксихолевая кислота, крыса.

Ya. R. MATSIUK, O. V. BARABAN

MORPHOFUNCTIONAL FEATURES OF THE PLACENTA OF RATS IN THE PRENATAL PERIOD WITH EXPERIMENTAL CHOLESTASIS

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus, e-mail: matsiuk39@mail.ru, baraban.olga@tut.by

It is found that the administration of UDCA to females with obstructive cholestasis, which has been modeled on the 17th day of gestation, does not change significantly the course of genetically determined processes associated with childbirth, but has a protective effect on the vascular link of the placenta changed during cholestasis and on cytochemical disturbances of its cellular elements.

Keywords: pregnancy, cholestasis, placenta, morphology, ursodeoxycholic acid, rat.

Введение. Развитие организма и его органов в раннем постнатальном периоде и особенно в пренатальном проходит весьма быстрыми темпами и очень чувствительно к воздействиям не только внешних, но и внутренних факторов [1]. В результате клинических и экспериментальных исследований установлено, что холестатическое состояние матери отрицательно воздействует на течение беременности, плодовитость, вызывая преждевременные роды [2, 3], сопровождаемые иногда летальным исходом [4], задержку физического развития родившегося потомства, снижение его резистентности и жизнеспособности [5, 6], нарушение становления структурных и цитохимических свойств его органов [7–9]. Механизм этого явления сложен и окончательно не установлен. Известно лишь, что при холестазе в сыворотке крови имеет место увеличение содержания щелочной фосфатазы, билирубина, зачастую ферментов печени и особенно желчных кислот (в 10–100 раз) [2, 10–12], а дезинтоксикационная функция печени при этом снижена [13]. Эти факторы, вероятно, и составляют эндогенную интоксикацию при холестазе.

Поскольку воздействие этих факторов на плод в системе мать–плод осуществляется через плаценту, в последней при холестазе в период интенсивного фетогенеза выявлены изменения как со стороны ее сосудистого звена, так и со стороны ее клеточного состава [14]. На выявленные изменения, как установлено впервые в работе [15], оказывает протективный эффект урсодезоксихолевая кислота (УДХК). Она имеет немало преимуществ в сравнении с другими препаратами, применяемыми при терапии холестаза беременных, и является совершенно безопасной не только для матери, но и для плода [16–19].

Какое воздействие оказывает УДХК на измененные при холестазах беременных морфофункциональные свойства плаценты в предродовой период, имеющие, вероятно, отношение к преждевременным родам, не выявлено [14]. Установлено лишь, что введение УДХК холестатическим самкам крыс в период интенсивного фетогенеза приводит к рождению потомства большей массы [15]. Изучение этого вопроса имеет не только научную, но и практическую значимость, так как будет способствовать нормализации при холестазах течения беременности и преждевременных родов, что даст возможность получить здоровое потомство.

Цель работы – выявить корректирующее действие урсодезоксихолевой кислоты на структуру плацент крыс в условиях холестаза беременных в предродовой период.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проведен на 29 беременных самках беспородных белых крыс массой 180–200 г, разбитых на три группы. У 20 самок на 17-й день беременности экспериментально моделировали подпеченочный обтурационный холестаз [20]. Из них во вторую группу вошли 10 самок с моделируемым холестазом, в третью группу – 10 самок, которым с момента создания холестатического состояния ежедневно вводили УДХК (урсофальк; Freiburg: Dr. Falk Pharma GmbH) в дозе 50 мг/кг в утренние часы перорально с пищей. В первую группу, служившую контролем, вошли 9 самок, у которых в этот срок беременности производили лишь лапаротомию, без наложения лигатуры на общий желчный проток. Всех самок контрольной и опытных групп содержали в одинаковых условиях вивария со свободным доступом к пище и воде.

В предродовом периоде на 21-е сутки беременности самок всех групп взвешивали, усыпляли в парах эфира и декапитировали. После лапаротомии осматривали рога матки, оценивали внешний вид плацент и плодов с последующим определением их абсолютной массы.

От каждой самки для исследований забирали 1–2 плаценты. Последние разрезали по срединной линии пополам. Одни половинки плацент животных контрольной и опытных групп после фиксации в жидкости Карнуа или холодном ацетоне заключали в парафин по принципу «контроль – холестаз – холестаз + УДХК». Изготовленные одновременно со средней части плацент самок контрольной и опытных групп парафиновые срезы толщиной 5 мкм после окраски гематоксилином и эозином использовали для гистологических и морфометрических исследований. В срезах толщиной 10 мкм после окраски по L. Einarsen в клеточных элементах плацент определяли содержание рибонуклеопротеинов (РНП). На парафиновых срезах плацент, фиксированных в холодном ацетоне, определяли локализацию и активность щелочной фосфатазы (фосфогидролитическая моноэфиров ортофосфорной кислоты; КФ 3.1.3.1; по Гомори, 1952, ЩФ) [21].

Другие половинки плацент сразу после забора подвергали глубокому замораживанию в жидком азоте с последующим монтированием их на объектодержатели криостата по принципу «контроль – холестаз – холестаз + УДХК». Изготовленные в криостате Leica CM-1850 при температуре -15°C срезы толщиной 10 мкм использовали для определения в клеточных элементах органа активности сукцинатдегидрогеназы (сукцинат: акцептор-оксидоредуктаза; КФ 1.3.99.1; по Нахласу и др., 1957, СДГ); лактатдегидрогеназы (L-лактат: НАДН-оксидоредуктаза; КФ 1.1.1.27; по Гесс и др., 1958, ЛДГ); НАДН-дегидрогеназы (НАДН: акцептор-оксидоредуктаза; КФ 1.6.99.3; по Нахласу и др., 1958, НАДН-ДГ) и кислой фосфатазы (фосфогидролитическая моноэфиров ортофосфорной кислоты; КФ 3.1.3.2; по Гомори, 1950, КФ). Все цитохимические реакции сопровождалась бессубстратными контролями [21].

Полученные гистологические и цитохимические препараты подвергали морфометрическому и цитофотометрическому исследованию. Для этих целей использовали компьютерный анализатор изображений с программой Image Warp (Bit Flow, США), микроскоп Axioscop 2 plus (C. Zeiss, Германия) с цифровой видеокамерой Leica DFC 320 (Германия). Из каждой плаценты самок контрольной и опытных групп использовали 5–6 серийных срезов. Размер структур оценивали в микрометрах (мкм), а активность ферментов – в единицах оптической плотности (ед. опт. пл.).

Полученный цифровой материал обрабатывали методами непараметрической статистики с применением компьютерной программы Statistica 6.0 для Windows. В описательной статистике для каждого показателя определяли значение медианы (Me) и интерквартильного диапазона (IQR). Сравнение групп по одному признаку проводили с помощью *U*-критерия Манна–Уитни для независимых выборок. Различия между показателями самок контрольной и опытных групп считали достоверными, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5 % ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. Исследования показали, что на 21-е сутки беременности самки опытной группы, которым с момента моделирования подпеченочного обтурационного холестаза ежедневно перорально с пищей вводили УДХК, отличались незначительно большей массой тела ($301,6 \pm 6,0$ г), нежели самки, не принимавшие ее ($282,5 \pm 1,1$ г), при $292,0 \pm 1,8$ г в контроле. Аналогичная закономерность прослеживалась у взятых у них плодов и плацент (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Абсолютная масса 21-дневных плодов крыс и плацент в контрольной и опытных группах, $Me \pm IQR$

Объект исследования	Контроль	Холестаз	Холестаз + УДХК
Плоды, г	$3,59 \pm 0,68$	$2,30 \pm 1,34^{**}$	$3,60 \pm 0,70$
Плаценты, мг	$533,5 \pm 126,5$	$481,5 \pm 172,0^*$	$542,0 \pm 165,0$

П р и м е ч а н и е. Достоверность различий при сравнении с контрольной группой: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

Помимо этого, плоды, полученные от холестатических самок, отличались желтизной кожного покрова, а их плаценты имели мраморную желто-зеленую окраску, особенно в области входа пуповины в ее лабиринтный отдел. Плоды, взятые от холестатических самок, которым вводили УДХК, отличались менее выраженной желтушностью кожного покрова или отсутствием последней, а их плаценты, за редким исключением, не имели мраморного желто-зеленого окрашивания. Уменьшена желтушность амниотических и желточных оболочек. Несмотря на снижение массы плацент плодов, взятых у самок с моделируемым холестазом, на 21-й день беременности процентное соотношение площадей материнского и детского отделов не отличалось от такового в контроле. При приеме этими самками УДХК доля материнского отдела в плацентах уменьшалась, а детского (лабиринтного) увеличивалась (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Процентное соотношение площадей материнского и детского отделов в плаценте на 21-е сутки беременности самок контрольной и опытных групп, $Me \pm IQR$

Отдел плаценты	Контроль	Холестаз	Холестаз + УДХК
Материнский	22 ± 3	22 ± 3	$18 \pm 4^{** \cdot}$
Детский	78 ± 3	78 ± 3	$82 \pm 4^{** \cdot}$

П р и м е ч а н и е. Достоверность различий: ** – $p < 0,01$ при сравнении с контрольной группой; \cdot – $p < 0,05$ при сравнении с группой с холестазом.

По данным морфометрии, в материнском отделе ширина лакун, собирающих кровь от венозных синусов лабиринтного отдела, была больше, чем при холестазе. Активность ЩФ в эндотелиоцитах лакун, переполненных кровью, существенно не менялась или незначительно снижалась, но оставалась довольно высокой. Лакуны желточного мешка существенно не расширились, содержали малое количество клеток крови, находящихся на стадии эритро- и миелобластов. Активность ЩФ в эндотелиоцитах лакун желточного мешка не обнаруживалась. Не выявлялась она и в дифференцирующихся клетках крови желточного мешка.

Численная плотность клеток трофобласта на единицу площади материнского отдела плаценты, которая была снижена при холестазе, при воздействии УДХК возрастала и даже превышала уровень контроля (табл. 3). Эти клетки локализовались в основном по периферии губчатого слоя на границе с миометрием. Однако значительная часть клеток трофобласта уменьшена в размерах, что подтверждается данными их периметра и площади. Цитоплазма многих клеток трофобласта подвержена явлению микровакуолизации, что снижало их тинкториальные свойства. Уменьшен и размер ядер (табл. 3). Их ядрышки становились компактными, гомогенной консистенции, с выраженными базофильными свойствами и занимали в ядрах, как правило, центральное положение. Многие из клеток трофобласта подвержены лизису инфильтрирующими нейтрофилами. Активность в них СДГ при введении УДХК существенно не менялась, а ЛДГ, НАДН-ДГ проявляла тенденцию к увеличению. Активность КФ, несмотря выявленные деструктивные изменения, проявляла тенденцию к уменьшению (см. рисунок).

Т а б л и ц а 3. Структурные показатели плаценты крыс в предродовый период при холестазах и воздействии УДХК, Ме ± IQR

Отдел	Показатель	Контроль	Холестаз	Холестаз + УДХК
Губчатый (материнская часть)	Количество клеток трофобласта на 0,1 мм ²	2,12 ± 1,32	1,32 ± 1,06**	2,38 ± 1,06***
	Площадь клеток, мкм ²	1390,70 ± 1126,50	1262,80 ± 1107,82	1260,70 ± 1106,07
	Периметр клеток, мкм	192,77 ± 73,95	172,12 ± 80,04	154,94 ± 114,23*
	Средний диаметр ядра, мкм	26,24 ± 9,65	24,15 ± 6,51 *	22,64 ± 9,71*
	Периметр ядра, мкм	93,12 ± 35,43	85,20 ± 20,38**	72,71 ± 28,13****
	Количество децидуальных клеток на 0,1 мм ²	146,86 ± 23,08	126,76 ± 25,13**	113,29 ± 33,57**
	Площадь клеток, мкм ²	199,58 ± 69,79	178,42 ± 38,62	239,06 ± 90,74****
	Периметр клеток, мкм	56,86 ± 14,32	56,15 ± 9,63	64,85 ± 14,92***
	Средний диаметр ядер, мкм	8,95 ± 3,00	9,43 ± 1,97	10,66 ± 1,78**
	Периметр ядер, мкм	30,56 ± 8,68	32,21 ± 7,89	35,95 ± 7,97****
Лабиринтный (детская часть)	Диаметр кровеносных лакун, мкм	44,56 ± 24,56	37,72 ± 28,62	42,00 ± 14,19
	Диаметр венозных синусов, мкм	17,06 ± 4,83	11,51 ± 4,07***	19,41 ± 5,63***
	Диаметр капилляров аллантаоиса, мкм	6,36 ± 3,14	6,19 ± 1,36	7,21 ± 2,98*
	Количество клеток Кашенко–Гофбауэра на 0,1 мм ²	26,89 ± 4,30	37,77 ± 4,20***	31,47 ± 10,49
	Площадь клеток, мкм ²	133,85 ± 64,01	188,58 ± 77,68**	195,95 ± 58,91***
	Периметр клеток, мкм	49,19 ± 12,39	56,25 ± 9,61**	60,40 ± 8,29****
	Средний диаметр ядер, мкм	8,85 ± 4,42	11,59 ± 2,22**	11,33 ± 1,22***
	Периметр ядер, мкм	33,87 ± 11,78	41,39 ± 9,61****	40,58 ± 5,26****

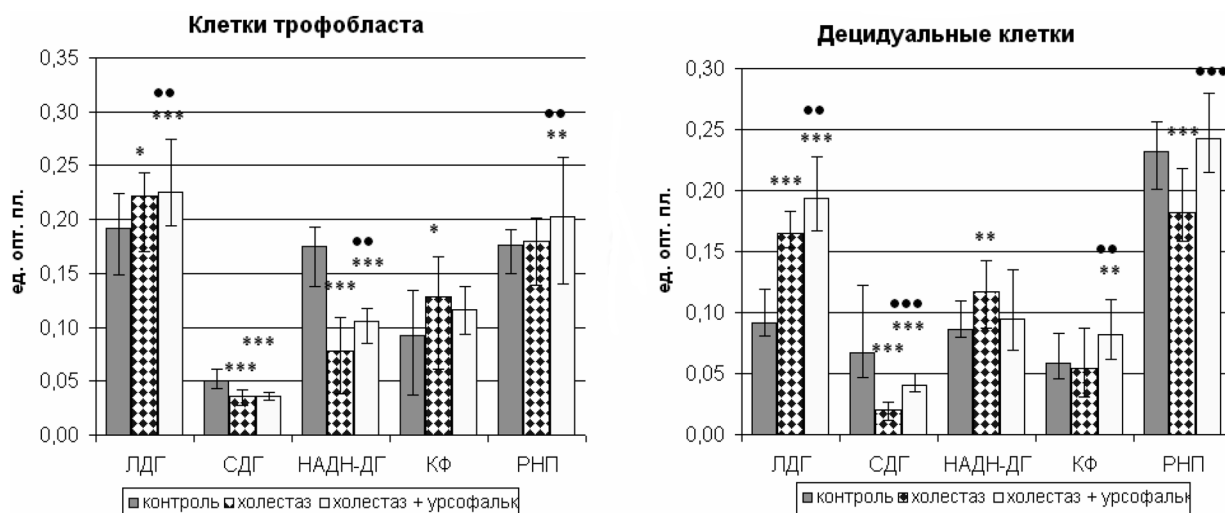
П р и м е ч а н и е. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ при сравнении с контрольной группой; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ при сравнении с группой с холестазами.

Число децидуальных клеток на единицу площади материнской части плаценты, постоянно уменьшающееся к концу нормально протекающей беременности [22], при введении УДХК холестатическим самкам сохраняло указанную выше тенденцию (табл. 3). Это наблюдалось даже при сравнении с плацентами контрольных самок. Децидуальные клетки отличались полиморфизмом. Однако площадь клеток значительно увеличивалась, как и размеры их ядер, а выраженность деструктивных изменений со стороны цито- и кариоплазмы была незначительной. Цитоплазма из-за явлений микровакуолизации приобретала пенный вид со слабоокисильной окраской. Хроматин в ядрах, как и при холестазах, сохранял крупноглыбчатый характер и неравномерное распределение по кариоплазме. Ядрышки маленькие, расположенные, как правило, в центре. Нередко встречались клетки с делящимися ядрами, двуядерные или с ядрами, подверженными пикнозу. Активность в децидуальных клетках СДГ, ЛДГ, а также КФ при введении УДХК возрастала, а НАДН-ДГ снижалась до уровня нормы. Увеличивалось до контрольного уровня и содержание РНП (см. рисунок).

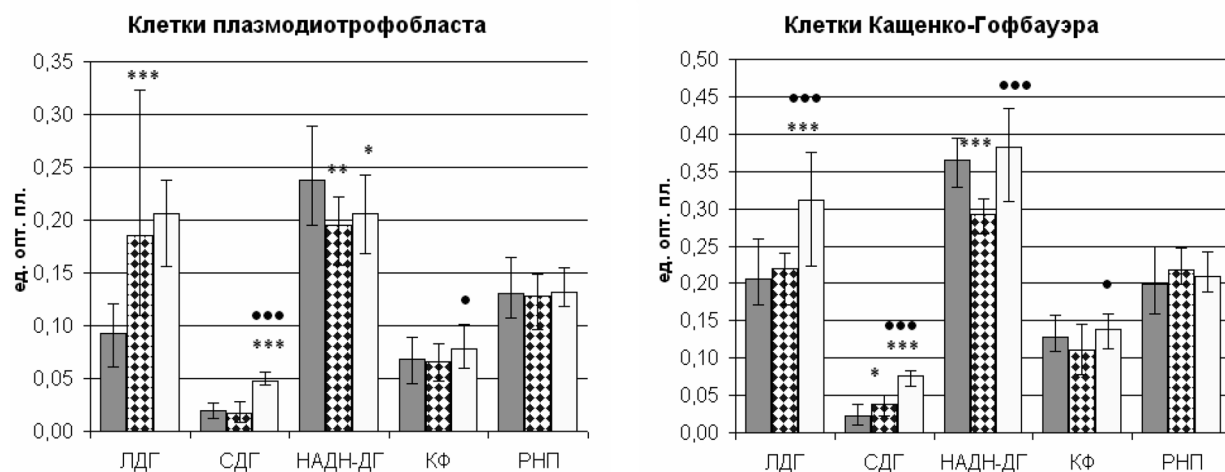
Увеличение доли лабиринтного (детского) отдела в плаценте холестатических самок после введения УДХК на 21-й день беременности происходило за счет ее сосудистого звена – просветы венозных синусов, несущих материнскую кровь, и аллантаидальных капилляров с кровью плода были повсеместно расширены и полнокровны. Эти расширения, как показали данные морфометрии, выявлены не только в сравнении с показателями самок с холестазами, но даже превышали уровень таковых в плаценте контрольных плодов. Выстилающие их эндотелиоциты были слегка отечны. Активность в них ЩФ несколько снижена, но еще довольно выражена. Незначительно отечны и клетки плазмодиотрофобласта, расположенные вокруг соединительнотканых прослоек, окружающих аллантаидальные капилляры. Активность в них ЛДГ, НАДН-ДГ, КФ и особенно СДГ проявляла тенденцию к увеличению. Возрастало и содержание РНП (см. рисунок).

Введение холестатическим самкам УДХК незначительно снижало увеличенное в лабиринтном отделе число клеток Кашенко–Гофбауэра, располагающихся в нежных соединительнотканых прослойках вокруг аллантаидальных капилляров и в разной степени вдающихся в просвет венозных синусов, несущих материнскую кровь. Однако их число на единицу площади оставалось

Материнская часть плаценты



Детская часть плаценты



Активность ферментов и содержание РНП в клетках плаценты крыс контрольной и опытных групп на 21-е сутки беременности ($Me \pm IQR$). * $-p < 0,05$, ** $-p < 0,01$, *** $-p < 0,001$ при сравнении с контрольной группой; * $-p < 0,05$, ** $-p < 0,01$, *** $-p < 0,001$ при сравнении с холестатической группой

выше такового у плацент контрольных плодов (см. табл. 3). Клетки Кашенко–Гофбауэра отличались выраженным полиморфизмом. Нередко среди них встречались делящиеся путем перетяжки клетки и двуядерные формы. В ядрах, которые отличались выраженными базофильными свойствами, располагались 1–2 ядрышка, занимающие чаще всего центральное положение. Выраженных структурных изменений в цитоплазме, за исключением незначительных микровakuолизаций, не наблюдалось. Активность ЛДГ, НАДН-ДГ, сниженная при холестазе, оставалась без изменений, активность СДГ значительно возрастала, оставалась увеличенной и КФ. Содержание РНП существенно не менялось (см. рисунок). Однако продукты гистохимических реакции в клетках Кашенко–Гофбауэра приобретали мелкогранулярный характер (в основном при воздействии УДХК) вместо крупноглыбчатого при холестазе.

Клетки цитотрофобласта, расположенные снаружи в начале ветвления аллантоидальных сосудов, в лабиринтном отделе уменьшались в высоте, снижались их тинкториальные свойства, а лежащая под ними базальная мембрана утолщалась. Активность в них ЛДГ, НАДН-ДГ оставалась сниженной, активность СДГ значительно возрастала, а КФ оставалась увеличенной. Содержание РНП в клетках цитотрофобласта проявляло тенденцию к еще большему уменьшению.

Заключение. Введение в преродовом периоде УДХК не изменяло в плаценте генетически обусловленных процессов в связи с предстоящими родами, но оказывало некоторый протективный эффект на изменения в органе, вызванные холестатической интоксикацией экспериментально моделируемого холестаза у матери в период интенсивного фетогенеза. В первую очередь препарат оказывал положительное влияние в плаценте на сосудистое звено, способствуя расширению просвета лакун в материнском отделе, венозных синусов в детском (лабиринтном) отделе, несущих кровь матери, и расположенных между ними аллантаидальных капилляров, несущих кровь плода. Это улучшало доставку к плоду трофического материала и способствовало развитию и увеличению массы плода, что подтверждают ранее проведенные нами исследования [22]. В значительной мере проявлялась тенденция не только к нормализации численной плотности клеточных элементов в материнском и детском отделах плаценты, но и их размеров при уменьшении в них деструктивных изменений, вызванных холестазом. Отмечалась тенденция к нормализации в них цитохимических свойств: возрастала сниженная холестатическим состоянием активность СДГ и ЛДГ (как ферментов, отвечающих за энергетические процессы клеток), КФ (свидетельствующая об адаптивных и регенерационных внутриклеточных механизмах), а также содержание РНП в связи с необходимостью увеличения белкового синтеза для реализации указанных выше процессов.

Список использованной литературы

1. Хворик, Н. В. Влияние урсодезоксихолевой кислоты на течение и исход родов у беременных с внутриспеченочным холестазом / Н. В. Хворик, В. А. Лискович, И. Н. Недведская // Мед. новости. – 2009. – № 15. – С. 45–47.
2. Шумскене, И. Гепатологические и акушерские аспекты внутриспеченочного холестаза беременных / И. Шумскене, Л. Купчинский, Ю. Кондракене // Гастроэнтерология. – 2001. – № 1. – С. 12–14.
3. Randomized placebo-controlled trial of ursodeoxycholic acid and S-adenosylmethionin in the treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy / R. L. Nicastrì [et al.] // Br. J. Obstet. Gynecol. – 1998. – Vol. 105. – P. 1205–1207.
4. Шляхова, Г. Н. Патология печени и беременность / Г. Н. Шляхова // Экстрагенитальная патология и беременность: сб. тр. / под ред. Г. Г. Орловой. – Саратов, 1992. – С. 64–71.
5. Показатели крови, неспецифической резистентности и прооксидантно-антиоксидантного равновесия у потомства крыс, родившихся в условиях холестаза / Я. Р. Мацюк [и др.] // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2010. – № 2. – С. 24–27.
6. Влияние урсофалька на неспецифическую резистентность и перекисное окисление липидов у крысят, родившихся в условиях холестаза / Я. Р. Мацюк [и др.] // Вес. НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2011. – № 3. – С. 73–78.
7. Мацюк, Я. Р. Особенности структурных и цитохимических свойств собственных желез желудка 15-суточных крысят, родившихся в условиях холестаза, экспериментально вызванного в период фетогенеза / Я. Р. Мацюк, Е. Ч. Михальчук // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2007. – № 2. – С. 46–49.
8. Мацюк, Я. Р. Морфофункциональные особенности женской репродуктивной системы 15-суточных крысят, родившихся в условиях холестаза, вызванного в период фетогенеза / Я. Р. Мацюк, С. Я. Гудинович, Л. С. Кизюкевич // Вес. НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2008. – № 2. – С. 99–104.
9. Чернышевич, Ю. Н. Структурные и цитохимические свойства подвздошной кишки крысят при холестазе матери / Ю. Н. Чернышевич, Я. Р. Мацюк // Новости мед.-биол. наук. – 2014. – Т. 10, № 3. – С. 112–118.
10. Шехтман, М. М. Экстрагенитальная патология у беременных / М. М. Шехтман. – М.: Медицина, 1987. – 296 с.
11. Кизюкевич, Л. С. Состояние тканевого гомеостаза почечной паренхимы через 24 часа от начала моделирования внепеченочного обтурационного холестаза / Л. С. Кизюкевич, О. Е. Кузнецов, И. Э. Гуляй // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2011. – № 4. – С. 94–97.
12. Кизюкевич, Л. С. Состояние тканевого гомеостаза почечной паренхимы через 72 часа от начала моделирования внепеченочного обтурационного холестаза / Л. С. Кизюкевич, О. Е. Кузнецов, И. Э. Гуляй // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2011. – № 1. – С. 42–45.
13. Савченков, Ю. И. Очерки физиологии и морфологии функциональной системы «мать–плод» / Ю. И. Савченков, К. С. Любинцев. – М.: Медицина, 1980. – 254 с.
14. Мацюк, Я. Р. Цитохимические характеристики плаценты крыс с подпеченочным обтурационным холестазом (экспериментальное исследование) / Я. Р. Мацюк, О. В. Барабан, С. Я. Гудинович // Вес. НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2013. – № 4. – С. 58–64.
15. Мацюк, Я. Р. Протективный эффект урсодезоксихолевой кислоты при холестазе в период интенсивного фетогенеза / Я. Р. Мацюк, О. В. Барабан // Новости мед.-биол. наук. – 2014. – Т. 10, № 4. – С. 151–156.
16. Calmus, Y. Ursodeoxycholic acid (UDCA) in the treatment of chronic cholestatic diseases / Y. Calmus, R. Poupon // Biochimie. – 1991. – Vol. 73. – P. 1335–1338.

17. Effects of ursodeoxycholic acid in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy / J. Palma [et al.] // *Hepatology*. – 1992. – Vol. 15. – P. 1043–1047.
18. Unusual case of severe cholestasis of pregnancy with early onset, improved by ursodeoxycholic acid administration / D. Brites [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 1997. – Vol. 76. – P. 165–168.
19. Ursodeoxycholic acid therapy in pregnant women with cholestasis / A. Diaferid [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 1994. – Vol. 52. – P. 133–140.
20. *Кизюкевич, Л. С.* Реактивные изменения в почках при экспериментальном холестазах / Л. С. Кизюкевич. – Гродно: ГрГМУ, 2005. – 239 с.
21. *Пирс, Э.* Гистохимия теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1962. – 962 с.
22. *Мацюк, Я. Р.* Структура плаценты крыс в разные сроки нормально протекающей беременности / Я. Р. Мацюк, О. В. Барабан // *Журн. Гродн. гос. мед. ун-та*. – 2012. – № 1. – С. 54–58.

Поступила в редакцию 13.05.2015

АГЛЯДЫ

УДК 572(028):575

Е. В. КУВЫРКОВ¹, П. А. ВОДОПЬЯНОВ², С. М. КОСМАЧЕВА¹

ПРИМЕНЕНИЕ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА: МЕДИЦИНСКИЕ И БИОЭТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

¹Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий,
Минск, Беларусь

²Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь,
e-mail: molec.biotech@mail.ru

Обоснован терапевтический потенциал эмбриональных стволовых клеток человека для их использования в регенеративной медицине. Проанализированы философско-методологические и биоэтические проблемы клинического применения эмбриональных стволовых клеток человека и предложены возможные пути их решения.

Ключевые слова: эмбриональные стволовые клетки человека, биоэтика, клонирование, дифференцировка, нанотопография.

E. V. KUVYRKOV¹, P. A. VODOPYANOV², S. M. KOSMACHEVA¹

APPLICATION OF HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS: MEDICAL AND BIOETHICAL ASPECTS

¹Republican Scientific and Production Centre for Transfusiology and Medical Biotechnologies, Minsk, Belarus

²Belarusian State Technological University, Minsk, Belarus, e-mail: molec.biotech@mail.ru

The therapeutic potential of human embryonic stem cells was justified for their using in regenerative medicine. The philosophical and methodological, and bioethical problems of clinic application of human embryonic stem cells were analyzed and the possible ways of their solving were suggested.

Keywords: human embryonic stem cells, bioethics, cloning, differentiation, nanotopography.

Введение. Биоэтические проблемы, как правило, ранее связывали с обсуждением вопросов пересадки органов, ограничения численности населения, целесообразности применения эвтаназии, аборт и др., позднее – с обсуждением вопросов гуманного отношения человека к подопытным животным. Последнее время в связи с использованием стволовых клеток особую актуальность приобрела проблема клонирования человека и его органов и тканей. Клонирование органов и тканей человека (терапевтическое клонирование) имеет важное значение для человечества, так как может повысить эффективность существующих методов лечения заболеваний и спасти жизни пациентам. Вместе с тем клонирование самого человека (репродуктивное клонирование) представляет опасность для человечества, поскольку может привести к нарушению законов эволюции живой природы. Интерес человечества к этическим проблемам, а не только к материальной выгоде от научно-технических достижений является положительным. Однако этические проблемы очень часто используются в качестве аргументов в нечестной конкурентной борьбе производителей научно-технической продукции и различных политических групп. Вследствие этого важно быть специалистом в области биологии, медицины, этики, философии, теологии, чтобы отличить научное обоснование биоэтической проблемы от ошибочных или надуманных аргументов.

Потенциал эмбриональных стволовых клеток человека. Различают несколько типов стволовых клеток в зависимости от степени их дифференцировки и источника получения. Зигота и несколько ее потомков, до формирования бластоцисты, могут дать начало целому организму, а также всем внутренним и внешним эмбриональным тканям, т. е. они являются тотипотентными эмбриональными стволовыми клетками. Плюрипотентные эмбриональные стволовые клетки получают из внутренней клеточной массы бластоцисты на 4–6-й день развития оплодотворенной яйцеклетки. Клетки внутреннего слоя бластоцисты (эмбриобласт) способны образовывать большинство тканей, но не целый организм, поскольку в них блокирована информация о плаценте. Клетки внешнего слоя бластоцисты (трофобласт) дифференцируются в клетки плаценты и пуповины. Полипотентные стволовые клетки локализованы практически во всех тканях эмбриона на более поздних стадиях развития и способны давать начало лишь нескольким клеточным линиям [1]. Они обеспечивают регенерацию тканей, а также клеток крови в процессе жизни человека. Это возможно благодаря тому, что стволовые клетки делятся симметрично и асимметрично, т. е. каждая стволовая клетка приводит к образованию двух дочерних клеток, одна из которых сохраняет потенциал к дифференцировке и пролиферации, в то время как другая дает начало клеточной линии или они обе сохраняют свои первоначальные характеристики. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки схожи с плюрипотентными эмбриональными стволовыми клетками [2–4]. Для индукции плюрипотентности соматических клеток используют гены, принадлежащие к разным семействам. Ген *Oct 3/4* и ряд генов семейства *Sox* (*Sox1*, *Sox2*, *Sox3*, *Sox15*) являются ключевыми регуляторами транскрипции, без их участия перепрограммирование клеток невозможно. Многие гены из семейств *Klf* (*Klf 1*, *Klf 2*, *Klf 4*, *Klf 5*) и *Myc* (*c-myc*, *L-myc*, *N-myc*), а также гены *Nanog* и *LIN28* повышают эффективность репрограммирования клеток и индукцию их плюрипотентности [5, 6].

Большие опасения вызывает способность индуцированных плюрипотентных стволовых клеток формировать опухоли у пациентов. Возникновение тератом рассматривается на сегодняшний день в качестве серьезного препятствия для использования этих стволовых клеток в регенеративной медицине [7, 8]. Все гены, которые способствуют образованию индуцированных плюрипотентных клеток, так или иначе могут участвовать в возникновении рака. Некоторые из них представляют собой известные онкогены, включая и те, которые входят в семейство *Myc*. В отсутствие экспрессии этих генов эффективность получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток снижается почти на два порядка. Исходя из этого, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки менее безопасны и более канцерогенны, чем эмбриональные стволовые клетки.

Регенеративной медициной достигнуты большие успехи в использовании мезенхимальных стволовых клеток человека в клеточной терапии заболеваний [9]. Однако уже очевидно, что трансплантация стволовых клеток взрослого организма не может восстановить все повреждения тканей и органов. Стволовые клетки взрослого человека не плюрипотентны, а полипотентны, т. е. из них нельзя вырастить органы и любые ткани организма, а можно получить только определенные ткани. Кроме того, в процессе развития организма его клетки подвержены различным генетическим нарушениям, таким как соматические мутации, генетические перестройки под действием вирусов, мобильных элементов и многое другое. Такие нарушения могут быть незаметны в стволовых клетках, однако способны оказывать влияние на функции органов и тканей.

Существует две потенциальные возможности для забора эмбриональных стволовых клеток: абортивный материал при естественном и искусственном оплодотворении. Известно, что при каждой успешной беременности, которая приводит к рождению живого ребенка, теряется несколько эмбрионов. Потеря некоторых из них вызвана генетическими аномалиями развития, потеря других – внешними физическими факторами или физиологическим либо психологическим состоянием матери [10]. Очевидно, природа предопределила появление «лишних» эмбрионов почти в каждой беременности.

При культивировании эмбриональных стволовых клеток человека в условиях *in vitro* требуются факторы роста и естественная ниша для поддержания их витальности, плюрипотентности и пролиферативного потенциала. Поддержание плюрипотентности человеческих эмбриональных

стволовых клеток требует обязательного участия основного фактора роста фибробластов, который активирует рецепторы трансформирующего фактора роста и стимулирует митоген-активируемый протеинкиназный (MAPK) путь [11–13]. Регуляторная сеть, состоящая из транскрипционных факторов *Oct-4*, *Nanog*, *Sox2*, предотвращает дифференцировку эмбриональных стволовых клеток человека в культуре и одновременно обеспечивает их собственное деление и сохранение плюрипотентности [14]. Для идентификации эмбриональных стволовых клеток человека обычно используют гликолипиды *SSEA3* и *SSEA4*, антигены *Tra-1-60* и *Tra-1-81* [15]. Для этих клеток также характерны высокая активность эндогенной щелочной фосфатазы и теломеразы [16], образование эмбрионидных тел цистической формы [17]. Эмбриональные стволовые клетки человека успешно наращивают, используя фидерный слой из человеческих эмбриональных фибробластов, эпителия фаллопиевых труб [18], фибробластов конечной плоти [19], который выделяет необходимые для эмбриональных стволовых клеток человека ростовые факторы; сыворотку крови человека [20]; культуральные среды на основе матригеля и рекомбинантных растворимых факторов крови [21].

В условиях *in vitro* из эмбриональных стволовых клеток человека созданы терапевтические типы клеток [22–26], испытанные в экспериментальных моделях *in vivo*. Например, глиальные прогениторные клетки для лечения повреждений спинного мозга в модели полностью восстанавливают нейральную функцию. Кардиомиоциты для лечения заболеваний сердца обладают сократительной способностью и адекватно реагируют на сердечные лекарственные препараты, а на модели с индукцией инфаркта миокарда успешно восстанавливают функции сердца. В-клетки для лечения сахарного диабета секретируют инсулин в ответ на действие глюкозы. Гемопоетические стволовые клетки, полученные из эмбриональных стволовых клеток, в отличие от донорских гемопоетических стволовых клеток, легче подбирать для трансплантации. Определенный пул дендритных клеток, продуцируемых из этих стволовых клеток, может использоваться для предотвращения иммунного отторжения других производных из эмбриональной стволовой клетки. Получены функционально активные гепатоциты, экспрессирующие ген $\alpha 1$ -антитрипсина, α -фетопротеина, альбумина и ядерного фактора печеночных клеток. На основе гепатоцитов создана эффективная система оценки метаболизма в печени человека и ее токсичности [27].

Для выращивания органов и тканей необходимы дополнительные платформы, например, на основе титана как наиболее востребованного материала для изготовления имплантатов в практической медицине по причине превосходной его биосовместимости с человеческими тканями [28]. Следовательно, взаимодействие эмбриональных стволовых клеток человека и модифицированных титановых поверхностей подложек является актуальным вопросом регенеративной медицины. Нанотопография поверхности позволяет управлять пролиферацией, миграцией, дифференцировочным потенциалом стволовых клеток человека посредством контролируемых изменений в клеточной адгезии [29–33]. Современные наноструктурированные покрытия представляют собой «пену», которая имитирует натуральные ткани, повышая тем самым биосовместимость с тканями организма человека. Более того, поры покрытий могут быть заполнены биологически активными веществами, такими как факторы роста и гормоны, с возможностью многокомпонентной загрузки и контролируемого высвобождения содержимого [34]. Такие системы потенциально могут быть использованы для создания модельных систем «лаборатория на микросхеме» (lab-on-a-chip), представляющих собой покрытые пористым диоксидтитановым слоем прозрачные подложки, которые позволяют осуществлять контролируемые биохимические процессы управления ростом клеток/тканей на микросхеме площадью от нескольких квадратных миллиметров до нескольких квадратных сантиметров.

При этом проблема иммунного барьера и вызванного этим отторжения чужеродных прогениторных клеток, тканей и органов может быть решена, если будут использоваться аутологичные эмбриональные стволовые клетки или аллогенные эмбриональные стволовые клетки с клононрованным геном реципиента на ранней стадии развития.

Совершенствование регенеративной медицины своего потенциала для *in vitro* выращивания органов и тканей из эмбриональных стволовых клеток человека на модифицированных титановых поверхностях подложек для последующей трансплантации пациентам позволит решить проблему нехватки донорских органов и тканей и спасти жизнь пациентам.

Философско-методологические и биоэтические проблемы применения эмбриональных стволовых клеток человека. Эмбриональные стволовые клетки могут применяться для получения специализированных клеток и дальнейшего создания любого типа ткани или выращивания органов, необходимых в генной терапии и трансплантологии. Возможность применения эмбриональных стволовых клеток вызвала ряд дискуссий по биоэтике о допустимости использования клеток, выделенных из абортированных или специально клонированных эмбрионов, в биомедицинских исследованиях и лечении заболеваний.

Международный комитет по биоэтике при ЮНЕСКО не дал однозначной оценки в отношении создания и использования эмбрионов для терапевтического клонирования. Он признает, что решения по этому вопросу, принятые национальными комитетами по биоэтике или национальными законодательными органами, могут быть различными в разных странах и регионах [35].

Статья 18 Конвенции о правах человека и биомедицине Совета Европы гласит: 1) если закон разрешает проводить исследования на эмбрионах *in vitro*, он же должен предусматривать надлежащую защиту эмбриона; 2) создание эмбрионов человека в исследовательских целях запрещается [36]. Однако Европейская группа по этике в науке и новых технологиях, действующая при Европейской комиссии, высказалась за выделение средств из бюджета сообщества для проведения исследований на «лишних» эмбрионах, хотя и подтвердила, что считает создание эмбрионов для исследований из донорских гамет этически неприемлемым.

В декларации Международной академии гуманизма указывается: «Мы не видим в клонировании высших животных, исключая человека, каких-либо неразрешимых этических дилемм. Не считаем мы очевидным и то, что будущие достижения в клонировании человеческих тканей и даже человеческих существ создадут моральные затруднения, которые не сможет разрешить человеческий разум. Моральные проблемы, порождаемые клонированием, не являются более крупными и более глубокими, чем вопросы, с которыми люди уже сталкивались по поводу таких технологий, как ядерная энергия, рекомбинантная ДНК и компьютерное шифрование. Они просто новые» [37].

Общественное отношение к допустимости использования эмбриональных стволовых клеток в разных странах во многом обусловлено уровнем культуры и религиозными традициями. В отдельных странах эмоции столь сильны, что трудно прийти к компромиссным решениям. Правительствам приходится балансировать между крайними воззрениями на статус эмбриона, с одной стороны, и обещаниями успехов в лечении болезней – с другой. Конфликт возникает между обязанностью государства по сохранению здоровья населения и обязанностью по защите его нравственных установок.

Многие религии едины в том, что необходимо уважать и охранять жизнь человека, стремиться предупредить и искоренять его страдания, обеспечивать справедливый доступ для всех к достижениям, связанным с использованием стволовых клеток. В философии морали существует различие между понятиями «жизнь человека» и «личность человека». С личностью человека связано его неотъемлемое достоинство и права. С имеющимися в этом вопросе различиями в подходах разных религий, обусловленными тем, в какой момент, по их мнению, происходит одушевление эмбриона, связано и формирование отношения разных религий к получению и использованию эмбриональных стволовых клеток человека.

Представители православной и католической церкви считают, что человеческая жизнь начинается с момента зачатия. Поэтому, в целом принимая достижения науки в области стволовых клеток, они считают безнравственным и незаконным использование и разрушение эмбрионов человека для получения эмбриональных стволовых клеток. Неэтичными являются, по мнению представителей этих религий, как исследования на эмбрионах человека, так и уничтожение их избытка после успешного искусственного оплодотворения и имплантации в тело матери. Учитывая право эмбриона на жизнь, его использование для целей терапии и облегчения страданий людей также считается аморальным и недопустимым.

Представители протестантской церкви считают статус эмбриона высоким, но более низким по сравнению со статусом родившегося ребенка. Поэтому они полагают, что исследования ство-

ловых клеток являются очень важными, и настаивают на необходимости общественного обсуждения целей и принципов их проведения.

В иудаизме эмбрион никогда не рассматривали как человеческую личность и считали, что гаметы и эмбрионы, находящиеся за пределами тела, не имеют никакого легального статуса. Зародыш не является личностью до тех пор, пока его голова не появится на свет из тела женщины, но его ценность высока, поскольку он живой. Эмбрион получает душу через 4 дня от момента зачатия. Поскольку эмбриональные стволовые клетки выделяют из эмбрионов, полученных в результате оплодотворения в пробирке, их использование в исследованиях и в клинике не вызывает возражений. Такие действия направлены на уменьшение страданий людей.

В исламских странах считают, что человеческая жизнь начинается после вселения души в эмбрион, т. е. в период между 40-м и 120-м днем после зачатия. Использование в исследованиях «лишних» эмбрионов, оставшихся после оплодотворения в пробирке, не вызывает возражений, поскольку изучение эмбрионов и получение эмбриональных стволовых клеток направлено на уменьшение страданий людей. Искусственное создание эмбрионов человека для исследований вызывает возмущение как неэтическое действие.

В индуизме и буддизме отсутствуют взвешенные оценки приемлемости получения и использования эмбриональных стволовых клеток. Подходы к этой проблеме различаются в разных странах. Обе религии принимают применение стволовых клеток в клинике и исследования в этой области как соответствующее их основному постулату сочувствия. В индуизме запрещается наносить любой вред всему живому миру, а эмбрион рассматривается как живое существо, поэтому использование эмбриональных стволовых клеток морально неприемлемо. Обе религии разделяют положение о том, что реинкарнация душ осуществляется в момент зачатия. Хотя некоторые течения индуизма относят зарождение личности на период между 3-м и 7-м месяцем жизни зародыша [38, 39].

Этические нормы и основанное на них законодательство в разных странах с преобладанием одной и той же религии различны. Согласно данным, представленным Dorothy Wertz, Marie-Helene Regnier, Bartha Maria Knoppers (CRDP, Universite de Montreal), в Австрии, Германии, Дании, Ирландии, Франции, Канаде, Швейцарии, Норвегии, а также в Беларуси производство культивируемых линий эмбриональных стволовых клеток человека признано нелегитимным. В США нет запрета на исследования, связанные с эмбриональными стволовыми клетками человека, при сохранности эмбрионов, однако введено ограничение на финансирование таких работ из федеральных фондов. В Японии, Англии, Греции, Нидерландах, Израиле такие исследования не запрещены.

Этическая законность исследований эмбриональных стволовых клеток зависит от медицинского статуса, который присвоен эмбриону. Большая часть этических дебатов по этой проблеме связана с обсуждением следующих вопросов: если эмбрион – человек, то действия с ним ограничены тем, что разрешено делать с другими людьми; если эмбрион – это лишь множество человеческих клеток, то существует значительно меньше ограничений при его использовании.

Одним из ключевых является вопрос о том, с какого времени эмбрион человека приобретает способность чувствовать. С 14-го дня развития эмбриона начинается формирование элементов нервной системы, что приводит к приобретению им восприимчивости к прикосновению или боли. Но возможность обрабатывать полученные ощущения не обнаруживается вплоть до 30-й недели развития, когда формируется центральная нервная система. Поэтому ведущие эмбриологи мира считают допустимым для манипуляций период от момента оплодотворения до 14-го дня развития эмбриона [40, 41].

Однако можно ли считать критерием становления индивидуума лишь появление способности чувствовать? Подобная точка зрения вызывает некоторые возражения, так как бессознательное состояние и нечувствительность к боли, в сущности, не могут служить основанием для отказа в защите прав индивидуума. Следует принять во внимание, что вне материнского организма может выжить лишь плод с 7-го месяца развития, поэтому его нужно рассматривать как индивидуум.

Возможно ли создание человеческих эмбрионов для определенных целей исследования или терапевтического использования? Если считать, что эмбрион имеет статус индивидуума, то это должно быть запрещено, поскольку идет вразрез с общечеловеческим принципом, запрещающим «инструментальное» использование людей. Если у эмбриона нет такого статуса, то является ли этически обречь тысячи людей на страдание и смерть, когда есть возможность помочь им, используя эмбриональные стволовые клетки? В этом случае не может быть возражений против создания и использования человеческих эмбрионов, так как потенциальная польза от терапевтического клонирования перевешивает любые другие аргументы.

Отказ от статуса эмбриона как индивидуума не должен приводить к занижению этической ценности человеческого эмбриона как такового. Человеческий эмбрион не может и не должен стать подобием лабораторного животного. Создание и использование человеческих эмбрионов должно быть строго регламентировано, находиться под постоянным контролем и проводиться с полного согласия доноров биологического материала. Пожертвование такого биологического материала должно носить альтруистический характер, не исключается и вознаграждение. Но необходимо предпринять все меры против коммерциализации и финансового стимулирования этого процесса. Создание и использование человеческих эмбрионов должно иметь только гуманитарные медицинские цели и не может проводиться для тривиальных, косметических и немедицинских целей.

Репродуктивное клонирование человека является второстепенной задачей применения эмбриональных стволовых клеток и рассматривается в свете решения проблемы бесплодия в тех случаях, когда современные методы искусственного оплодотворения не дают желаемого результата. Для терминального формирования тканей организма требуется соблюдение условий, учитывающих влияние различных факторов на каждой стадии развития. Можно успешно размножить клетки органа или ткани, но для воспроизводства целого организма требуется учесть огромное количество факторов, чтобы не получить дефектный, с малой жизнеспособностью организм. Так, в описанных экспериментах у многих клонированных животных были обнаружены пороки развития [42]. По этой причине, а также ввиду того, что человек не может сводиться только к совокупности генов, Международным комитетом по биоэтике при ЮНЕСКО репродуктивное клонирование человека провозглашено противоречащим человеческому достоинству и строго запрещено [43].

Если мы ценим человеческую жизнь, мы должны ценить ее во всех проявлениях и отвергать любые злоупотребления человеческими органами и тканями. Было бы неправильным утверждать, что терапевтическое использование эмбрионов несовместимо с принципом ценности человеческих органов и тканей и принципом уважения человеческого достоинства при условии, что цели такого использования этичны и гуманны. Медицинское использование попадает в эту категорию. Терапевтическое клонирование при использовании эмбрионов на ранней стадии развития (до 14 дней после оплодотворения) совместимо с принципом уважения человеческой жизни, поскольку направлено на облегчение страданий и спасение жизни людей, принцип уважения которых отстаивается.

Заключение. Использование эмбриональных стволовых клеток человека, имеющих значительный регенеративный потенциал для выращивания любых органов, тканей, прогениторных клеток на модифицированных титановых поверхностях подложек, позволит повысить эффективность существующих методов лечения и улучшить здоровье людей. До сих пор не решены все биоэтические проблемы, однако их нравственно-научное осмысление вселяет надежду на успешное преодоление преград в будущем. Вследствие этого каждое государство, исходя из своих моральных и культурных установок, вправе решать, готово ли оно принять современные достижения в области клеточной биотехнологии. Обсуждение должно исходить из плюрализма мнений на основе научных аргументов. При этом учитываться должны как уровень нравственности граждан, так и квалификация специалистов. Если общество не готово принять новое, необходимо ввести мораторий и вернуться к этому вопросу позднее. Отпущенное время следует использовать для просвещения и обучения общества.

Список использованной литературы

1. Embryonic stem cells lines derived from human blastocysts / J. A. Thomson [et al.] // *Science*. – 1998. – Vol. 282. – P. 1145–1147.
2. *Takahashi, K.* Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors / K. Takahashi, S. Yamanaka // *Cell*. – 2006. – Vol. 126, N 4. – P. 663–676.
3. *Okita, K.* Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells / K. Okita, T. Ichisaka, S. Yamanaka // *Nature*. – 2007. – Vol. 448, N 7151. – P. 313–317.
4. *Gurdon, J. B.* Nuclear transfer to eggs and oocytes / J. B. Gurdon, I. Wilmut // *Cold Spring Harbor Perspectives Biology*. – 2011. – Vol. 3, N 6. – Doi: 10.1101/cshperspect.a002659.
5. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors / K. Takahashi [et al.] // *Cell*. – 2007. – Vol. 131, N 5. – P. 861–872.
6. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells / J. Yu [et al.] // *Science*. – 2007. – Vol. 318, N 5858. – P. 1917–1920.
7. *Knoepfler, P. S.* Deconstructing stem cell tumorigenicity: a roadmap to safe regenerative medicine / P. S. Knoepfler // *Stem Cells*. – 2009. – Vol. 27, N 5. – P. 1050–1056.
8. Human induced pluripotent stem cells develop teratoma more efficiently and faster than human embryonic stem cells regardless the site of injection / I. Gutierrez-Aranda [et al.] // *Stem Cells*. – 2009. – Vol. 28, N 9. – P. 1568–1570.
9. *Salem, H. K.* Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status / H. K. Salem, C. Thiernemann // *Stem Cells*. – 2010. – Vol. 28. – P. 585–596.
10. *Edwards, R. G.* Causes of early embryonic loss in human pregnancy / R. G. Edwards // *Hum. Reprod.* – 1986. – Vol. 1, N 3. – P. 185–198.
11. *Greber, B.* Fibroblast growth factor 2 modulates transforming growth factor β signaling in mouse embryonic fibroblasts and human ESCs (hESCs) to support hESC self-renewal / B. Greber, H. Lehrach, J. Adjaye // *Stem Cells*. – 2007. – Vol. 25. – P. 455–464.
12. A complex role for FGF-2 in self-renewal, survival, and adhesion of human embryonic stem cell / L. Eiseleova [et al.] // *Stem Cells*. – 2009. – Vol. 27, N 8. – P. 1847–1857.
13. *Greber, B.* Silencing of core transcription factors in human EC cells highlights the importance of autocrine FGF signaling for self-renewal / B. Greber, H. Lehrach, J. Adjaye // *BMC Dev. Biol.* – 2007. – Vol. 7. – Doi:10.1186/1471-213X-7-46.
14. LIF/STAT3 signaling fails to maintain self-renewal of human embryonic stem cells / L. Daheron [et al.] // *Stem Cells*. – 2004. – Vol. 22. – P. 770–778.
15. *Odorico, J. S.* Multilineage differentiation from human embryonic stem cells line / J. S. Odorico, D. S. Kaufman, J. A. Thomson // *Stem Cells*. – 2001. – Vol. 19. – P. 193–204.
16. *Gerrard, L.* Differentiation of human embryonic stem cells to neural lineages in adherent culture by blocking bone morphogenetic protein signaling / L. Gerrard, L. Rodgers, W. Cui // *Stem Cells*. – 2005. – Vol. 23. – P. 1234–1241.
17. Human feeders support prolonged undifferentiated growth of human inner cell masses and embryonic stem cells / M. Richards [et al.] // *Nat. Biotechnol.* – 2002. – Vol. 20. – P. 933–936.
18. Human feeder layers for human embryonic stem cells / M. Amit [et al.] // *Biol. Reprod.* – 2003. – Vol. 68. – P. 2150–2156.
19. Human-serum matrix supports undifferentiated growth of human embryonic stem cells / P. Stojkovic [et al.] // *Stem Cells*. – 2005. – Vol. 23. – P. 895–902.
20. Feeder layer- and serum-free culture of human embryonic stem cells / M. Amit [et al.] // *Biol. Reprod.* – 2004. – Vol. 70. – P. 837–845.
21. Teratoma formation leads to failure of treatment for type I diabetes using embryonic stem cell-derived insulin-producing cells / T. Fujikawa [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2005. – Vol. 166, N 6. – P. 1781–1791.
22. *Erceg, S.* Human embryonic stem cell differentiation toward regional specific neural precursors / S. Erceg, M. Ronaghi, M. Stojković // *Stem Cells*. – 2009. – Vol. 27, N 1. – P. 78–87.
23. Characterization and enrichment of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells / C. Xu [et al.] // *Circ. Res.* – 2002. – Vol. 91. – P. 501–508.
24. Generation of insulin-producing islet-like clusters from human embryonic stem cells / J. Jiang [et al.] // *Stem Cells*. – 2007. – Vol. 25, N 8. – P. 1940–1953.
25. Brief report: efficient generation of hematopoietic precursors and progenitors from human pluripotent stem cell lines / N. B. Woods [et al.] // *Stem Cells*. – 2011. – Vol. 29, N 7. – P. 1158–1164.
26. *Agarwal, S.* Efficient differentiation of functional hepatocytes from human embryonic stem cells / S. Agarwal, K. L. Holton, R. Lanza // *Stem Cells*. – 2008. – Vol. 26, N 5. – P. 1117–1127.
27. Биология стволовых клеток и клеточные технологии / под ред. М. А. Пальцева. – М.: Изд-во «Медицина»; Изд-во «Шико», 2009. – Т. 1. – 272 с.
28. *Skorb, E. V.* Surface nanoarchitecture for bio-applications: self-regulating intelligent interfaces / E. V. Skorb, D. V. Andreeva // *Adv. Funct. Mater.* – 2013. – Vol. 23. – P. 4483–4506.
29. Nanotopography influences adhesion, spreading, and self-renewal of human embryonic stem cells / W. Chen [et al.] // *ACS Nano*. – 2012. – Vol. 6. – P. 4094–4103.
30. Nanotopographical cues augment mesenchymal differentiation of human embryonic stem cells / E. Kingham [et al.] // *Small*. – 2013. – Vol. 9. – P. 2140–2151.
31. Embryonic and induced pluripotent stem cells: understanding, creating, and exploiting the nano-niche for regenerative medicine / E. Kingham [et al.] // *ACS Nano*. – 2013. – Vol. 7. – P. 1867–1881.

32. Changes in embryonic stem cell colony morphology and early differentiation markers driven by colloidal crystal topographical cues / L. Ji [et al.] // *Eur. Cell Mater.* – 2012. – Vol. 23. – P. 135–146.
33. Regulation of stem cells fate by nanomaterial substrate / O. Mashinchian [et al.] // *Nanomedicine.* – 2015. – Vol. 10, N 5. – P. 829–847.
34. *Skorb, E. V.* Dynamic interfaces for responsive encapsulation systems / E. V. Skorb, H. Moehwald // *Adv. Mater.* – 2013. – Vol. 36. – P. 5029–5043.
35. *McCall Smith, A.* The use of embryonic stem cells in therapeutic research / A. McCall Smith, M. Revel // Report of the IBC on the ethical aspects of human embryonic stem cell research. – Paris: UNESCO, 2001.
36. The European convention on human rights and biomedicine [Electronic resource]. – 1997. – Mode of access: http://europatientrights.eu/biomedicine_convention/biomedicine_convention_text.html. – Date of access: on August 26, 2015.
37. Declaration of defense of cloning and the integrity of scientific research / P. Admiraal [et al.] // *Free Inquiry.* – 1997. – Vol. 17, N 3. – P. 11–12.
38. The human embryonic stem cell debate: science, ethics and public policy / ed. by S. Holland, K. Lebacqz, L. Zoloth. – Cambridge: MIT PRESS, 2001. – P. 257.
39. The pew forum on religion and public life, religious groups official positions on stem cell research [Electronic resource]. – 2008. – Mode of access: <http://pewforum.org/docs/?DocID=319>. – Date of access: August 26, 2015.
40. *McLaren, A.* IVF: regulation or prohibition? / A. McLaren // *Nature.* – 1989. – Vol. 342, N 6249. – P. 469–470.
41. *Edwards, R. G.* New ethical implications of human embryology / R. G. Edwards // *Hum. Reprod.* – 1986. – Vol. 1, N 4. – P. 277–278.
42. *Vogel, G.* Harnessing the power of stem cells / G. Vogel // *Science.* – 1999. – Vol. 283. – P. 1432–1434.
43. Universal declaration on the human genome and human rights [Electronic resource]. – 1997. – Mode of access: http://portal.unesco.org/en/ev.php-URL_ID=13177&URL_DO=DO_TOPIC&URL_SECTION=201.html. – Date of access: August 26, 2015.

Поступила в редакцию 21.01.2016

УДК 676.8-004

О. Е. ГИЧКУН, Е. Б. ЯРОШЕНКО, А. О. ШЕВЧЕНКО

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ АУТОЛОГИЧНЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПАЦИЕНТАМ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ

Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика

В. И. Шумакова, Москва, Россия, e-mail: Gichkunoe@yandex.ru

Рассеянный склероз (РС) – хроническое заболевание центральной нервной системы, сопровождающееся разнообразными неврологическими симптомами и в течение нескольких лет приводящее к инвалидизации. Лечение РС является одной из наиболее актуальных и сложных проблем практической медицины. Применение имеющихся на сегодняшний день препаратов позволяет лишь снизить частоту и тяжесть обострений, что для лечения хронических неврологических расстройств явно недостаточно. Трансплантация гемопоэтических клеток является одним из перспективных методов лечения РС. В обзоре представлен анализ результатов клинических исследований по применению трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при лечении больных РС.

Ключевые слова: рассеянный склероз, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, клинические исследования.

О. Е. GICHKUN, E. B. YAROSHENKO, A. O. SHEVCHENKO

HAEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION TO PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS

V. I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russia,

e-mail: Gichkunoe@yandex.ru

Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory disorder of the central nervous system leading to severe neurological deficits. Current MS treatment consists in using immunomodulatory agents aimed to reduce a rate of relapses. However, these agents are usually insufficient to treat the chronic neurological disability. The haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is a perspective method of MS treatment. Our review of the literature presents the information on the clinical trials of MS HSCT.

Keywords: multiple sclerosis; stem cell transplantation, clinical trials.

Рассеянный склероз (РС) – хроническое демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы (ЦНС), характеризующееся многоочаговостью поражения белого вещества головного и спинного мозга, ремиттирующим течением и вариабельностью неврологических симптомов.

Исследования в области лечения РС традиционно ориентированы на достижение клинических результатов, таких как снижение частоты рецидивов, замедление и остановка прогрессирования инвалидизации. В то же время положительная динамика, регистрируемая при визуализирующих методах исследования (например, магнитно-резонансная томография) позволяет рассматривать терапию РС еще и как нейропротективную. Альтернативным методом лечения РС может быть терапия, которая не только защищает нейроны от дальнейшей демиелинизации и потери аксонов, но и позволяет достичь ремиелинизации, нейрорегенерации, что сопровождается частичным восстановлением утраченных функций. В настоящем обзоре рассматриваются данные современных клинических исследований и новые подходы к лечению с потенциально высокими нейропротективными возможностями.

Патогенез РС складывается из комплекса иммунопатологических и патохимических реакций, развивающихся в ЦНС. Предполагают, что иммунные процессы (аутоиммунная агрессия) индуцируются антигенными структурами ЦНС – основным белком миелина, протеолипидным

протеином, гликопротеином миелина, миелиновым олигодендроцитным гликопротеином и, возможно, другими миелиновыми антигенами [1, 2].

Активация CD4+ Т-хелперных клеток первого типа (провоспалительные лимфоциты – Th1) на периферии (вне ЦНС) является первым этапом иммунопатогенеза РС. Популяции аутореактивных Т-лимфоцитов, реагирующих с собственными антигенами ЦНС, присутствуют и у здоровых людей, но в минимальных количествах и в неактивном состоянии. Иммунологические изменения при РС проявляются снижением содержания Т-клеток супрессоров, подавлением Т-клеточного ответа на митогены, невысоким потенциалом NK-клеток, активацией продукции интерферонов и интерлейкинов, увеличением цитотоксичности мононуклеарных клеток.

Активность иммунопатологических реакций определяется уровнем антиген-представления в ткани и активностью адгезии клеток к эндотелию сосудов, активацией Т-клеток, которая при ответе на некоторые антигены может носить поликлональный характер. Баланс супрессорных и активационных цитокинов, их растворимых рецепторов и ингибиторов имеет решающее значение в прогрессировании иммунопатологического процесса в ЦНС.

В результате каскада иммунологических и биохимических нарушений в белом веществе головного и спинного мозга формируются патологические очаги – бляшки, которые повреждают миелин и олигодендроциты. Помимо развития воспалительных реакций, демиелинизирующего процесса и глиальных нарушений происходит повреждение аксонов. Именно гибель аксонов при РС считают ответственной за развитие необратимого неврологического дефицита и трансформацию ремиттирующего течения во вторично-прогрессирующее. В ходе повреждения олигодендроцитов и миелина высвобождается большое количество аутоантигенов, дающих толчок к дальнейшему развитию аутоиммунного процесса. Регуляторные механизмы, обеспечивающие в норме баланс про- и противовоспалительных цитокинов и своевременную супрессию иммунного ответа, оказываются при РС несостоятельными, что и обуславливает прогрессирование патологического процесса [3, 4].

Лечение РС является одной из важных проблем современной практической медицины. Учитывая, что этиология заболевания остается неясной, невозможны профилактика и этиотропное лечение. Действующая терапия РС заключается в своевременном адекватном купировании обострений, назначении препаратов, замедляющих прогрессирование болезни путем предупреждения рецидивов, поэтапном проведении всесторонней симптоматической терапии, включающей реабилитацию психофизического состояния. При этом в подавляющем большинстве случаев эффект терапии носит временный характер, несмотря на ее постоянное или циклическое проведение.

Механизмы развития РС как аутоиммунного заболевания наводят на мысль о возможной эффективности трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, при которой происходит замещение «больной» иммунной системы пациента «новой», полученной из стволовых клеток [5].

Трансплантация кроветворных стволовых клеток (ТКСК), источником которых могут быть костный мозг, периферические стволовые клетки крови, пуповинная кровь, является одним из эффективных методов терапии различных форм гемобластозов у взрослых и детей, а также негематологических опухолей. Идея трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при лечении онкологических больных заключается в том, что после проведения высокодозной химиотерапии, которая сочетается с полной аплазией костного мозга, производится восстановление костномозгового кроветворения за счет пересадки донорского (аллогенного) или своего, ранее полученного и сохраненного (аутологичного), костного мозга. Впервые успешная аллогенная трансплантация костного мозга была выполнена в 1968 г. в США группой Robert A. Good у ребенка, страдавшего тяжелой формой врожденного иммунодефицита [6]. Проведение аллогенных трансплантаций значительно более травматично для пациента, так как может сопровождаться развитием реакции «трансплантат против хозяина». Наиболее целесообразным представляется применение аутологичной трансплантации, когда используют заранее заготовленные собственные (аутологичные) стволовые клетки пациента. Сочетание высокодозной иммуносупрессивной терапии с трансплантацией аутологичных стволовых клеток позволяет достичь улучшения или стабилизации при многих аутоиммунных заболеваниях, а в ряде случаев приводит к их излечению [7]. Первые доклинические эксперименты (выполнялись примерно 20 лет назад) показали, что

облучение или введение высоких доз циклофосфида с последующей сингенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток предотвращает рецидивы заболевания у животных с аутоиммунным энцефалитом в эксперименте [8]. Результаты этих работ были использованы в клинической практике в середине 1990-х годов. В последующие два десятилетия, по данным Европейского реестра трансплантации костного мозга (EBMT), документально подтверждено, что 469 пациентов прошли ТКСК для лечения РС [9], еще 143 пациента были зарегистрированы в Консорциуме по международным исследованиям трансплантации клеток костного мозга (CIBMTR) [10]. В таблице приведены результаты ряда клинических исследований метода аутоотрансплантации стволовых клеток периферической крови больным РС.

**Результаты клинических исследований после применения метода аутологичной трансплантации
стволовых клеток периферической крови больным рассеянным склерозом**

Рабочая группа	К-во пациентов	Критерии включения	Длительность исследования (min-max)	К-во случаев смертности от лечения	Доля выживших без прогрессирования заболевания
Fassas, 1997 [11]	15	Н. д.	6 (6–18) мес.	0	Н. д.
Fassas, 2000 [12]	24	Возраст 18–55 лет, EDSS >4,0	3,3 года (21–51 мес.)	1 (4,2 %): аспергиллез через 2 мес.	76 % (4 года)
Fassas, 2002 [13]	83	Н. д.	16 (3–59) мес.	5 (6 %): кардиотоксичность через 7 дней, церебральный аспергиллез через 58 дней, септицемия через 26 дней, вирусная пневмония через 20 дней, пневмококковая септицемия через 586 дней	74 % (3 года)
Kozak, 2000 [14]	11	Возраст 18–55 лет, EDSS 6,0–7,5	8,5 (1–16) мес.	0	Н. д.
Openshaw, 2000 [15]	5	EDSS 5,5–7,5	Н. д.	2 (40 %): вирусная пневмония через 22 дня, бактериальная пневмония через 19 мес.	Н. д.
Burt, 2003 [16]	21	Возраст до 55 лет, EDSS 3,0–7,0	3,2 года (6 мес. – 5 лет)	0	25 % (2,6 года)
Nash, 2003 [17]	26	EDSS 5,0–8,0	2 года (3 мес. – 3 года)	1 (3,8 %): ВЭБ-PTLD через 53 дня	73 % (3 года)
Saiz, 2004 [18]	15	ППРС и PPPC	3 года (19–55 мес.)	0	85,7 % (3 года)
Saccardi, 2005 [19]	19	Возраст 18–55 лет, EDSS 5,0–6,5	3 (1–6) года	0	95 % (6 лет)
Saccardi, 2006 [20]	169	Н. д.	41,7 мес.	9 (5,3%)	Н. д.
Samjin, 2006 [21]	14	Возраст 18–50 лет, EDSS 5,0–7,0	3 года (7–33 мес.)	0	36 % (3 года)
Xu, 2006 [22]	22	Миланские критерии	3,2 года (6–59 мес.)	0	77 % (5 лет)
Shevchenko, 2008 [23]	50	Возраст 18–55 лет, EDSS 1,5–8,0	1,6 года (6–90 мес.)	0	72 % (6 лет)
Burt, 2009 [24]	21	Возраст 18–55 лет, EDSS 2,0–5,5	3 года (24–48 мес.)	0	100 % (3 года)
Fagius, 2009 [25]	9	Злокачественный РС	2,6 года (23–47 мес.)	0	100 % (2,6 года)
Krasulova, 2010 [26]	26	Н. д.	5,5 года (11–132 мес.)	0	71 % (3 года)
Hamerschlak, 2010 [27]	41	Возраст 18–55 лет, EDSS 3,0–6,5, диагноз более 1 года		3 (14 %): сепсис, кардиотоксичность, альвеолярная геморрагия	47,6 % (3 года) 70 % (2 года)
Fassas, 2011 [28] (отдаленные результаты)	35	Возраст 18–55 лет, EDSS >4,0	11 (2–15) лет	2 (6 %): аспергиллез через 2 мес., легочная геморрагия через 2,5 года	25 % (15 лет)

Рабочая группа	К-во пациентов	Критерии включения	Длительность исследования (min–max)	К-во случаев смертности от лечения	Доля выживших без прогрессирования заболевания
Shevchenko, 2012 [29]	95	«Ранняя ТКСК»: EDSS 1,5–3,0, «поздняя ТКСК»: EDSS 3,5–6,0, «терапия риска»: EDSS 7,0–8,0	3,8 года (10–66 мес.)	0	82 % (5 лет)
Bowen, 2012 [30]	26	EDSS 5,0–8,0	4 года (3–72 мес.)	1: ВЭБ-PTLD через 53 дня	63 % (3 года) 48 % (6 лет)
Mancardi, 2012 [31]	74	Н. д.	4 года (0,8–126 мес.)	2 (2,7 %): энцефалопатия через 1 мес., отторжение через 24 дня	66 % (5 лет)
Chen, 2012 [32]	25		5 лет (4,5–111 мес.)	2 (9,5 %): пневмония через 4,5 мес., ВЗВ-гепатит через 15 мес.	74 % (3 года) 65 % (6 лет) 48 % (9 лет)
Burman, 2014 [33]	48	Н. д.	4 года (12–108 мес.)	0	77 % (5 лет)

Примечание. Н. д. – нет данных; ВЭБ-PTLD – посттрансплантационная лимфопролиферативная болезнь, обусловленная вирусом Эпштейн–Барра; ВЗВ-гепатит – гепатит, обусловленный зостер вирусом; EDSS – расширенная шкала оценки степени инвалидизации; ППРС – первично-прогрессирующий рассеянный склероз; РПРС – ремиттирующе-рецидивирующий рассеянный склероз.

Суммируя результаты данных, представленных в таблице, можно констатировать, что только в 4 различных исследованиях, проведенных с 1997 г., имеются отдаленные результаты наблюдений за пациентами с РС после применения ТКСК [26, 28, 30, 31].

Мобилизация CD34+ клеток была предпочтительной, прошла успешно у большинства пациентов с РС и не сопровождалась серьезными неблагоприятными событиями во всех вышеуказанных исследованиях. Неврологическое ухудшение, наблюдаемое во время лечения, возможно, обусловлено реактивацией первичного заболевания. Этот риск снижался при совместном одновременном применении циклофосамида, кортикостероидов и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), хотя, по данным некоторых исследователей, при использовании этой лечебной схемы все равно наблюдалось преходящее ухудшение симптомов РС. На сегодняшний день существует общий регламент порядка процесса мобилизации клеток: забор клеток выполняют из периферической крови; для мобилизации клеток применяют циклофосамид (2–4 г/м²) совместно с G-CSF (5–10 мкг/кг). Минимальное количество мобилизованных CD34+ клеток должно составить (2–3)·10⁶ CD34+ клеток/кг [9]. Приживление клеток отмечалось у всех пациентов, кроме одного [31], хотя в 2006 г. при повторном анализе базы данных EBMT приживленные клетки составили 100 % (178/178).

Доля летальных исходов от лечения (учитываются исходы, которые не относятся к основному заболеванию, но рассматриваются как результат ТКСК), как сообщалось в 6 работах, составила от 2,7 до 20 % [15, 17, 27, 28, 30, 31]. Тем не менее, только в одном исследовании уровень летальности превышал порог 15 %, определенный Миланским Консенсусом [15]. При детальном анализе у больных РС летальность от ТКСК изначально была неприемлемо высокой, а начиная с 2001 г., по данным недавнего анализа регистра EBMT, снизилась до 1,3 %, что, скорее всего, обусловлено менее агрессивным режимом кондиционирования, более строгим отбором пациентов, улучшением поддерживающего лечения, в том числе профилактикой инфекций [13].

Наиболее частыми поздними неблагоприятными событиями у пациентов с РС, перенесших ТКСК, были вирус ветряной оспы, реактивация вируса простого герпеса и развитие аутоиммунных заболеваний, главным образом аутоиммунного тиреоидита.

Зарегистрировано небольшое число злокачественных новообразований [21, 26, 28, 29], хотя непродолжительность времени диспансерного наблюдения пациентов в большинстве исследований

не позволяет сделать окончательные выводы. В 5 случаях обнаружены злокачественные опухоли, в 3 – гемобласты (1 посттрансплантационная лимфопролиферативная болезнь, обусловленная вирусом Эпштейн–Барра, 1 миелодисплазия и 1 острый промиелоцитарный лейкоз). Для оценки отдаленных результатов, связанных с токсичностью лечения, настоятельно рекомендуется постоянный мониторинг пациентов после ТКСК.

Оценить клиническую эффективность ТКСК на основании опубликованных результатов представленных исследований достаточно сложно, так как работы различаются критериями отбора пациентов, схемами лечения и оценкой конечных точек (исходов).

Тем не менее, в большинстве отчетов эффективность метода лечения выражали через показатель выживаемости без прогрессирования заболевания (ВБП). Последний определяется как отсутствие подтвержденного увеличения индекса EDSS (*англ.* Expanded Disability Status Scale – расширенная шкала оценки степени инвалидизации) по крайней мере на 1 пункт. В исследованиях с длительностью наблюдения не менее 2 лет ВБП колебалась от 36 до 100 %, и только у небольшого числа пациентов показатель EDSS вырос. Кроме того, эффект ТКСК на стабилизацию течения заболевания, наблюдаемый в краткосрочном периоде, лишь частично подтверждался на отдаленных этапах наблюдения [26, 28, 31, 32]. В исследовании Fassas и соавт. показатель ВБП составил 76 % при 4-летнем наблюдении, а после 15 лет наблюдения – 25 %; в опыте итальянских исследователей у 18 пациентов с длительностью наблюдения более 7 лет данный показатель составил 44 %.

Согласно отчетам Европейской группы трансплантации костного мозга (ЕВМТ) 2002 и 2006 гг., летальность, связанная с трансплантацией, составила 6 и 5,3 % при анализе 85 и 185 случаев соответственно [13, 20].

Как показывают результаты исследований, ТКСК позволяет полностью остановить прогрессирование заболевания на протяжении 3,5 года у большинства пациентов с РС. Из 183 больных РС, внесенных в регистр ЕВМТ с 1995 по 2004 г., у 63 % после ТКСК наблюдалось устойчивое улучшение или стабилизация течения заболевания [28]. Индекс EDSS в момент трансплантации составлял в среднем 6,5 балла, длительность наблюдения – 3,5 года. У всех пациентов были признаки прогрессирования заболевания в течение последних 12 мес. до ТКСК и/или очаги демиелинизации, накапливающие гадолиниевый контрастный препарат при магнитно-резонансной томографии. После ТКСК у большинства пациентов наблюдалось уменьшение степени инвалидизации по шкале EDSS (на 1–4 балла) и значительное снижение частоты рецидивов. При этом ВБП в течение 3 лет составила 60–80 %.

В течение 10 лет после ТКСК ВБП составила 65 % для вторично-прогрессирующего и 40 % для первично-прогрессирующего варианта РС [16]. Следует отметить, что в это исследование были включены преимущественно пациенты с тяжелыми формами РС, не поддающимися стандартным методам лечения. Похожие результаты были достигнуты в 5 исследованиях, проведенных в США, общее количество пациентов в которых составило 66 человек.

Наиболее впечатляющий эффект продемонстрирован при так называемом злокачественном варианте течения РС, который имеет быстрое агрессивное течение и является резистентным к любым вариантам стандартной терапии [26, 31, 34]. В таких случаях проведение ТКСК являлось терапией «спасения» и приводило к значительному улучшению и длительной стабилизации заболевания (более 3 лет).

В исследовании Е. Krasulova и соавт. [26] изучены результаты трансплантации у 31 пациента с вторично-прогрессирующим РС. Длительность наблюдения после ТКСК составила в среднем 48 (24–72) мес. Индекс EDSS до трансплантации колебался от 5,0 до 7,5. У 37 % пациентов после трансплантации наблюдали либо стабилизацию в течении заболевания, либо клиническое улучшение. Летальных исходов не зарегистрировано. Высокая эффективность ТКСК показана также в исследовании J. Xu и соавт. [22], в котором оценены результаты трансплантации у 15 пациентов с вторично-прогрессирующим РС и индексом EDSS 3,5–7,5 балла. ВБП в течение 49 мес. составила 63,8 %.

С 2000 г. все полученные по данным МРТ результаты подтвердили практически 100 %-ную редукцию активности иммуновоспалительного процесса после трансплантации и длительное

сохранение эффекта [18, 28, 35]. С помощью данных МРТ продемонстрировано, что ТКСК связана с долговременной супрессией воспаления и заметным уменьшением степени атрофии головного мозга спустя 2 года после проведения трансплантации [35].

Результаты исследований показывают, что у пациентов с выраженным иммуновоспалительным компонентом в ЦНС отмечается значительное снижение инвалидизации после ТКСК. У лиц с длительным анамнезом и первично-прогрессирующим течением, т. е. в случае преобладания нейродегенеративного компонента (атрофии мозга), положительный эффект может не наблюдаться. Выполненные иммунологические исследования показали, что длительный положительный эффект ТКСК, по-видимому, объясняется не только иммуносупрессивным действием режима кондиционирования, но и ремодуляцией иммунной системы [36]. Следует особо отметить, что после ТКСК существенно улучшилось качество жизни пациентов [19].

Результаты второй фазы исследования EUDRACT N:2007-000064-24 показали, что ТКСК уменьшает на 79 % число новых очагов T2 по сравнению с митоксантроном, снижает Gd⁺ очагов и количество годовых рецидивов [37].

Таким образом, накопленный международный опыт показывает, что ТКСК, применяемая у больных РС, является наиболее действенным иммуносупрессивным и противовоспалительным методом лечения РС. Дальнейшие исследования необходимы, чтобы подтвердить эффективность режима кондиционирования низкой интенсивности в долгосрочной перспективе и, оценив терапевтические схемы, предложить лучшие из них для применения в клинической практике.

Заключение. Значительные успехи, достигнутые в понимании иммунобиологии РС, привели к пониманию целесообразности применения метода аутологичной ТКСК в качестве альтернативного лечения больных РС. В настоящее время доказано, что высокие дозы иммунной абляции и аутологичной ТКСК у больных РС позволяют элиминировать или восстанавливать патогенную популяцию Т-клеток, обновляя тем самым иммунную систему и, возможно, усиливая механизмы иммунной толерантности. Данный вид лечения имеет клинические перспективы, так как может предотвращать рецидивы и замедлять прогрессирование заболевания [36].

В начале 2000-х годов из-за высокой летальности процедура ТКСК рассматривалась как возможное лечение пациентов РС с неблагоприятным прогнозом, на которых стандартные методы лечения не действовали.

В последнее десятилетие благодаря растущему опыту и неврологов, и гематологов в подборе пациентов для трансплантации, разработке новых методов химиотерапии и поддерживающих схем лечения, обеспечивающих высокий процент приживления и низкую степень токсичности, обусловленной лечением, показатель летальности после применения метода аутологичной ТКСК у больных РС снизился до 1,3 % [13], а выживаемость без прогрессирования заболевания составила от 47 до 100 % [18, 19, 26, 29, 31, 33]. Эти данные подтверждают применение аутологичной ТКСК в качестве возможной терапии второй линии при рефрактерном РС.

В то же время, чтобы избежать рисков, необходимо учитывать рекомендации EBMT для аутологичной ТКСК у больных РС, которые предлагают предпочтительный режим кондиционирования BEAM-ATG (300 мг/м² кармустина, 200 мг/м² цитозинарабинозина, 200 мг/м² этопозида, 140 мг/м² мелхалана + антитимоцитарного глобулина), хотя последние данные показывают, что низкоинтенсивный, немиелоаблативный режим кондиционирования может быть таким же эффективным и у пациентов молодого возраста (до 40 лет) со злокачественным клиническим/нейрорадиологическим курсом лечения (и динамикой по нейровизуализационным маркерам).

Постоянно расширяющийся спектр доступных методов лечения РС (например, препараты натализумаб, алемтузумаб) требует переоценки показаний к аутологичной ТКСК и определения места данного метода в алгоритме лечения больных РС. Компромисс может быть достигнут, если метод аутологичной ТКСК применять в отдельных случаях в качестве терапии второй (или даже первой) линии у пациентов со злокачественной формой болезни и/или при наличии противопоказаний к использованию утвержденных методов терапии второй линии (например, сопутствующих аутоиммунных заболеваний, связанных с приемом алемтузумаба).

Аутологичная трансплантация кроветворных стволовых клеток представляется весьма перспективным методом лечения РС. Концепция клеточной терапии аутоиммунных заболеваний открывает дополнительные перспективы для интеграции специалистов, занимающихся разработкой новых методов лечения аутоиммунных заболеваний, определяет перспективы дальнейших исследований в данной области.

Работа выполнена в рамках программы по созданию высокотехнологичных производств, утвержденной постановлением Правительства Российской Федерации от 9 апреля 2010 г. № 218.

Список использованной литературы

1. *Frohman, E. M.* Multiple sclerosis the plaque and its pathogenesis / E. M. Frohman, M. K. Racke, C. S. Raine // *N. Engl. J. Med.* – 2006. – N 354. – P. 942–955.
2. Рассеянный склероз / под ред. Е. И. Гусева, И.А. Завалишина, А.Н. Бойко. – М.: Реал Тайм, 2011. – 528 с.
3. *Dendrou, C. A.* Immunopathology of multiple sclerosis / C. A. Dendrou, L. Fugger, M. A. Friese // *Nat. Rev. Immunol.* – 2015. – Vol. 15, N 9. – P. 545–558. – doi: 10.1038/nri3871. Epub. 2015 Aug. 7.
4. *Riedhammer, C.* Antigen presentation, autoantigens, and immune regulation in Multiple sclerosis and other autoimmune diseases / C. Riedhammer, R. Weissert // *Front Immunol.* – 2015. – Vol. 17, N 6. – P. 322. – doi: 10.3389/fimmu.2015.00322. eCollection 2015.
5. *Atkins, H. L.* Hematopoietic stem cell therapy for multiple sclerosis: top 10 lessons learned / H. L. Atkins, M. S. Freedman // *Neurotherapeutics.* – 2013. – Vol. 10, N 1. – P. 68–76. – doi: 10.1007/s13311-012-0162-5.
6. *Ribatti, D.* The fundamental contribution of Robert A. Good to the discovery of the crucial role of thymus in mammalian immunity / D. Ribatti // *Immunology.* – 2006. – Vol. 119, N 3. – P. 291–295.
7. Complications of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / K. Arnaout [et al.] // *Cancer Invest.* – 2014. – Vol. 32, N 7. – P. 349–362. – doi: 10.3109/07357907.2014.919301. Epub. 2014 June 5.
8. Prevention and reversal of adoptively transferred, chronic relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis with a single high dose cytoreductive treatment followed by syngeneic bone marrow transplantation / D. M. Karussis [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1993. – N 92. – P. 765–772.
9. Haematopoietic SCT in severe autoimmune diseases: updated guidelines of the European Group for Blood and Marrow Transplantation / J. A. Snowden [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 2012. – N 47. – P. 770–790.
10. Transplantation for autoimmune diseases in north and south america: a report of the Center for International Blood and Marrow Transplant Research / M. C. Pasquini [et al.] // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2012. – N 18. – P. 1471–1478.
11. Peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of progressive multiple sclerosis: first results of a pilot study / A. Fassas [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 1997. – Vol. 20, N 8. – P. 631–638. – doi:10.1038/sj.bmt.1700944.
12. Autologous stem cell transplantation in progressive multiple sclerosis – an interim analysis of efficacy / A. Fassas [et al.] // *J. Clin. Immunol.* – 2000. – Vol. 20, N 1. – P. 24–30.
13. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis. A retrospective multicenter study / A. Fassas [et al.] // *J. Neurol.* – 2002. – Vol. 249, N 8. – P. 1088–1097. – doi:10.1007/s00415-002-08007.
14. High dose immunosuppressive therapy with PBPC support in the treatment of poor risk multiple sclerosis / T. Kozak [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 2000. – Vol. 25, N 5. – P. 525–531. – doi:10.1038/sj.bmt.1702180.
15. Peripheral blood stem cell transplantation in multiple sclerosis with busulfan and cyclophosphamide conditioning: report of toxicity and immunological monitoring / H. Openshaw [et al.] // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2000. – Vol. 6, N 5A. – P. 563–575.
16. Hematopoietic stem cell transplantation for progressive multiple sclerosis: failure of a total body irradiation-based conditioning regimen to prevent disease progression in patients with high disability scores / R. K. Burt [et al.] // *Blood.* – 2003. – Vol. 102, N 7. – P. 2373–2378. – doi:10.1182/blood-2003-03-0877.
17. High-dose immunosuppressive therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation for severe multiple sclerosis / R. A. Nash [et al.] // *Blood.* – 2003. – Vol. 102, N 7. – P. 2364–2372. – doi:10.1182/blood-2002-12-3908.
18. Clinical and MRI outcome after autologous hematopoietic stem cell transplantation iMS / A. Saiz [et al.] // *Neurology.* – 2004. – Vol. 62, N 2. – P. 282–284.
19. Autologous HSCT for severe progressive multiple sclerosis in a multicenter trial: impact on disease activity and quality of life / R. Saccardi [et al.] // *Blood.* – 2005. – Vol. 105, N 6. – P. 2601–2607. – doi:10.1182/blood-2004-08-3205.
20. Autologous stem cell transplantation for progressive multiple sclerosis: update of the European Group for Blood and Marrow Transplantation autoimmune diseases working party database / R. Saccardi [et al.] // *Mult. Scler.* – 2006. – Vol. 12, N 6. – P. 814–823.
21. Intense T-cell depletion followed by autologous bone marrow transplantation for severe multiple sclerosis / J. P. Samsijn [et al.] // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* – 2006. – Vol. 77, N 1. – P. 46–50. – doi:10.1136/jnnp.2005.063883.
22. Clinical outcomes after autologous haematopoietic stem cell transplantation in patients with progressive multiple sclerosis / J. Xu [et al.] // *Chin. Med. J. (Engl.).* – 2006. – Vol. 119, N 22. – P. 1851–1855.
23. High-dose immunosuppressive therapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation as a treatment option in multiple sclerosis / Y. L. Shevchenko [et al.] // *Exp. Hematol.* – 2008. – Vol. 36, N 8. – P. 922–928. – doi:10.1016/j.exphem.2008.03.001.

24. Autologous non-myeloablative haemopoietic stem cell transplantation in relapsing remitting multiple sclerosis: a phase I/II study / R. K. Burt [et al.] // *Lancet Neurol.* – 2009. – Vol. 8, N 3. – P. 244–253. – doi:10.1016/S1474-4422(09)70017-1.
25. *Fagius, J.* Early highly aggressive MS successfully treated by hematopoietic stem cell transplantation / J. Fagius, J. G. Lundgren // *Oberg. Mult. Scler.* – 2009. – Vol. 15, N 2. – P. 229–237. – doi:10.1177/1352458508096875.
26. High-dose immunoablation with autologous haematopoietic stem cell transplantation in aggressive multiple sclerosis: a single center 10-year experience / E. Krasulova [et al.] // *Mult. Scler.* – 2010. – Vol. 16, N 6. – P. 685–693. – doi:10.1177/1352458510364538.
27. Brazilian experience with two conditioning regimens in patients with multiple sclerosis: BEAM/ horse ATG and CY/ rabbit ATG / N. Hamerschlag [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 2010. – Vol. 45, N 2. – P. 239–48. – doi:10.1038/bmt.2009.127.
28. Long-term results of stem cell transplantation for MS: a single-center experience / A. Fassas [et al.] // *Neurology.* – 2011. – Vol. 76, N 12. – P. 1066–1070. – doi:10.1212/WNL.0b013e318211c537. Outcome of HSCT in MS patients after a median follow-up of 11 years.
29. Autologous hematopoietic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning in multiple sclerosis / Y. L. Shevchenko [et al.] // *Exp. Hematol.* – 2012. – Vol. 40, N 11. – P. 892–898. – doi:10.1016/j.exphem.2012.07.003.
30. Autologous hematopoietic cell transplantation following high-dose immunosuppressive therapy for advanced multiple sclerosis: long-term results / J. D. Bowen [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 2012. – Vol. 47, N 7. – P. 946–951. – doi:10.1038/bmt.2011.208.
31. Autologous haematopoietic stem cell transplantation with an intermediaten intensity conditioning regimen in multiple sclerosis: the Italian multi-center experience / G. L. Mancardi [et al.] // *Mult. Scler.* – 2012. – Vol. 18, N 6. – P. 835–842. – doi:10.1177/1352458511429320. Italian study of autologous HSCT in MS with BEAM/ATG conditioning regimen.
32. Long-term efficacy of autologous haematopoietic stem cell transplantation in multiple sclerosis at a single institution in China / B. Chen [et al.] // *Neurol. Sci.* – 2012. – Vol. 33, N 4. – P. 881–886. – doi:10.1007/s100720110859-y.
33. Autologous haematopoietic stem cell transplantation for aggressive multiple sclerosis: the Swedish experience / J. Burman [et al.] // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* – 2014. – doi:10.1136/jnnp-2013-307207.
34. *Havrdova, E.* Aggressive multiple sclerosis – is there a role for stem cell transplantation? / E. Havrdova // *J. Neurol.* – 2005. – N 252 (Suppl. 3). – P. III34–III37.
35. Italian GITMO-NEURO Intergroup on Autologous Stem Cell Transplantation. The long-term effect of AHSCT on MRI measures of MS evolution: a five-year follow-up study / L. Roccatagliata [et al.] // *Mult. Scler.* – 2007. – N 13. – P. 1068–1070.
36. Thymic output generates a new and diverse TCR repertoire after autologous stem cell transplantation in multiple sclerosis patients / P. A. Muraro [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2005. – N 201. – P. 805–816.
37. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in multiple sclerosis: a phase II trial / G. L. Mancardi [et al.] // *Neurology.* – 2015. – Vol. 84, N 10. – P. 981–988. – doi: 10.1212/WNL.0000000000001329. Epub. 2015 Feb. 11.

Поступила в редакцию 12.10.2015

УДК 616.8-005-072:517.938

*Е. Н. АПАНЕЛЬ¹, Б. В. ДРИВОТИНОВ², В. А. ГОЛОВКО²,
Г. Ю. ВОЙЦЕХОВИЧ², А. С. МАСТЫКИН²*

ПРИНЦИП ЗАЩИТЫ КРОВΟΣНАБЖЕНИЯ МОЗГА

¹*Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Беларусь,
e-mail: apanel@rambler.ru*

²*Брестский технический университет, Брест, Беларусь*

Предлагается новый подход к проблеме структурно-функционального комплекса защитных механизмов кровоснабжения мозга на базе интеллектуальных информационных технологий для предупреждения возникновения и развития острых преходящих цереброваскулярных нарушений по типу транзиторных ишемических атак (ТИА). Этот подход конкретизируется нейросетевым моделированием процесса решения прогнозно-диагностической задачи. Приведены собственные данные распознавания подтипов ТИА на тестовых выборках со следующими статистическими параметрами: чувствительность – 73 %, специфичность – 89, точность – 78 %.

Ключевые слова: транзиторная ишемическая атака, защитный рефлекс Парина, нейроинтеллектуальная ангионейропревентология, прогнозная диагностика, принцип «социальной компенсации».

E. N. APANEL, B. V. DRIVOTINOV, V. A. GOLOVKO, H. Yu. VAITSEKHOVICH, A. S. MASTYKIN

PROTECTIVE PRINCIPLE OF BLOOD SUPPLY TO THE BRAIN

¹*Republican Scientific-Practical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Belarus, e-mail: apanel@rambler.ru*

²*Brest Technical University, Brest, Belarus*

New data on structural and functional protective mechanisms of blood supply to the brain to prevent the transient ischemic attack (TIA) occurrence are presented. Data on the prognostic diagnosis of TIA etiopathogenic subtypes are also presented. The following statistical parameters are: sensitivity – 73 %, specificity – 89, accuracy – 78 %.

Keywords: transient ischemic attack, Parin's protective reflex, neurointelligent angioneuropreventology, predictive diagnostics, principle of "social compensation".

Введение. Как правило, причиной транзиторной ишемической атаки (ТИА) являются атеросклероз и артериальная гипертензия, чаще – их сочетание. Особая роль отводится такому этиопатологическому фактору, как кардиоэмболия. Проявления симптоматики также различны. Общее в этих проявлениях – скоротечность. Временной фактор их проявления (24 ч) до сих пор является предметом дискуссий.

Отличительная черта динамики патогенеза и патокинеза ТИА – это «нестабильный паритет сил» между адаптивно-саногенными и патогенными процессами, когда первые, как правило, полностью не реализуются, а последние не достигают завершающей стадии своего развития [1]. Эту неустойчивость следует использовать для проведения опережающих превентивных мероприятий с целью предупреждения дальнейшего развития патологического процесса.

По данным ВОЗ, смертность мужчин от кардиocereброваскулярной патологии в Беларуси в трудоспособном возрасте в 3–4,5 раза выше, чем в странах Европейского Союза [2]. В подавляющем большинстве случаев этим необратимым изменениям предшествуют малозаметные преходящие гипоксико-ишемические расстройства кровоснабжения мозга самой различной этиологии.

Цель работы – обоснование нового превентологического подхода к решению проблемы раннего выявления, предупреждения возникновения и необратимого развития цереброваскулярных гипоксико-ишемических атак.

В основу наших разработок положен защитный рефлекс Парина [3] (функциональная компонента) и основные положения геометрии Пифагора и фрактальной концепции [4–14].

Согласно принципу защитного рефлекса Парина, при возбуждении барорецепторов легочных артерий, расположенных у основания бифуркации легочного ствола, давление в малом круге кровообращения повышается, а в большом круге – рефлекторно снижается за счет брадикардии и расширения сосудов большого круга. Разгрузка малого круга препятствует перенаполнению легких кровью и развитию отека. При снижении давления в легочной артерии системное давление возрастает и, таким образом, кровенаполнение легких нормализуется. В системе кровообращения роль депо-регулятора кровяного давления и объема циркулирующей крови выполняет селезенка, представляющая функциональную защитную компоненту.

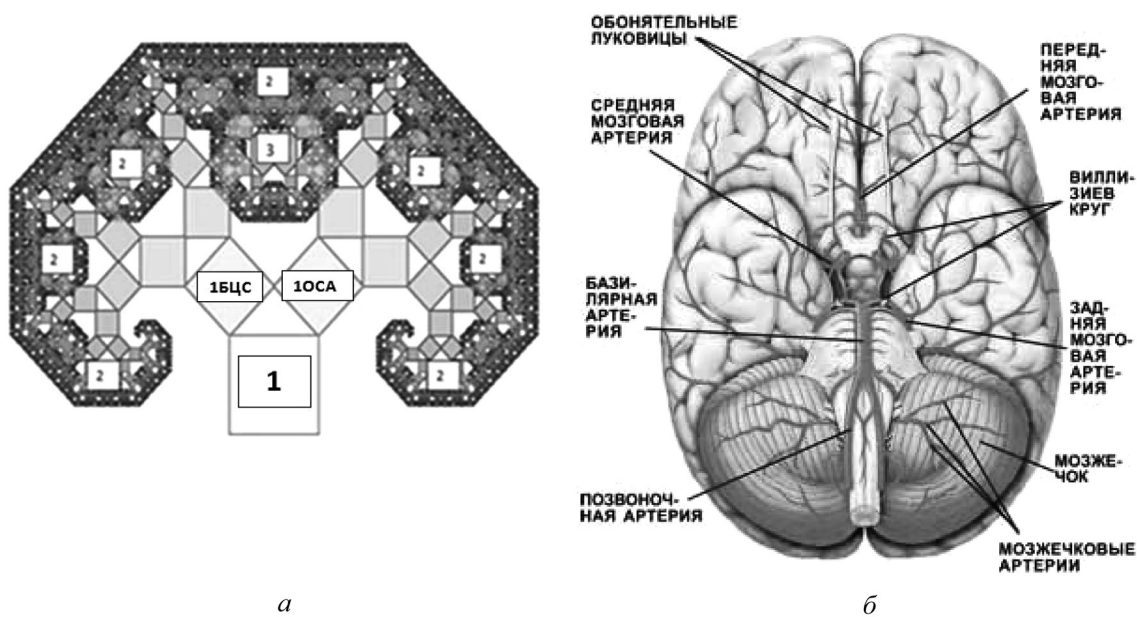
Основная компонента защитного комплекса обусловлена фрактальной структурой сердечно-сосудистой системы и легких. Это естественный, созданный Природой защитный структурно-функциональный системный комплекс (структурно функциональная кардиопульмоноцереброваскулярная защитная нелинейная стохастическая динамическая система) против необратимых фатальных событий вследствие неожиданных резких перегрузок [4–9, 15–22]. В нормальных условиях жизнедеятельности этот защитный структурно-функциональный комплекс организма работает в режиме слежения и обеспечивает регулируемую корректировку состояния сердечно-сосудистой системы и всего организма, используя естественные адаптогенные свойства. В запредельных аномальных условиях, при прочих вредоносных влияниях на нормальную жизнедеятельность этот комплекс переключается в режим повышенной активной защиты, осуществляя физиологически обусловленную централизацию кровообращения при неблагоприятных условиях. Причем совместная адаптогенная работа сердца, легких, мозга и сосудов этого защитного комплекса происходит не по строгой, раз и навсегда созданной, унифицированной для всех детерминированной схеме, а осуществляется индивидуально, нелинейно, динамично, стохастически подстраиваясь под особенности внешних нагрузок, влияний и условий [23]. Кратковременные запредельные адаптивно-подстроечные перебои в работе этого защитного комплекса, как патологический отклик, проявляются внешними преходящими признаками нарушения естественного функционирования мозга, всей нервной системы и всего организма в целом. Феноменологически это проявляется симптоматикой острого преходящего, как правило, скоротечного, нарушения мозгового кровообращения, что укладывается в нозологию ТИА.

Концепция построения системы предупреждения ТИА. Как в норме, так и при различных патологических состояниях ТИА разворачивается на фоне созданного Природой естественного ансамбля множественных нормально функционирующих механизмов защиты кровоснабжения мозга. Все эти механизмы неоднородны как по функции и структуре, так и по локализации во всей сети кровеносных сосудов. Основным из них является защитный рефлекс Парина. Остальные защитные механизмы, как производные от него, рассредоточены по ветвлениям сети кровеносных сосудов и функционально отвечают за нормальное состояние и функционирование своего участка кровоснабжения. Формально математически эту концепцию можно выразить с помощью геометрии Пифагора и фрактальной концепции (см. рисунок). Каноническая форма «дерева Пифагора» в контексте его геометрических аксиом представлена на рисунке, *a*. Так выглядит, в нашем представлении, общая картина нормальных структурно-функциональных взаимоотношений защитных механизмов кровоснабжения мозга. В современных исследованиях наибольший интерес представляют ее модификации [4–9, 15, 16, 20, 21].

Пример фрактально-геометрического ветвления «магистральных стволов» и «кроны» «дерева Пифагора» применительно к описанию эшелонированно упорядоченного распределения защитных механизмов кровоснабжения мозга дается в неразрывном структурно-функциональном единстве комплекса «сердце–легкие, сосуды и кровь».

Есть все основания полагать, что специфические структурно-функциональные отличия между конкретными участками кровеносного сосуда обусловлены функциональными особенностями и локализацией структурного участка мозга и глаз.

Этапы защиты кровоснабжения мозга. Поэтапное построение нейросетевой модели эшелонированной защиты кровоснабжения мозга осуществляется по ветвлениям «дерева Пифагора» (см. рисунок, *a*).



Геометрическая формализация сосудистой системы кровоснабжения мозга: *а* – каноническая форма «дерева Пифагора» (абстрактно-геометрическая модель ветвлений кровеносных сосудов, обеспечивающих кровоснабжение мозга): 1 – главный сердечно аортальный ствол с защитным рефлексом Парина, 2 – множественные высшие эшелоны ветвлений со своими локальными специализированными механизмами защиты нормального обеспечения кровоснабжения, 3 – обособленный «куст» сосудистых ответвлений, максимально удаленный от комплекса «сердце–легкие» и непосредственно приближенный к структурам мозга (Виллизиев круг); *б* – функционально-анатомическая система артерий обеспечения кровоснабжения мозга

Первый этап. Базовый уровень – стратегическое обеспечение безопасности кровоснабжения и недопущение гипоксико-ишемических нарушений во всей системе кровообращения организма (комплекс сердце–легкие, защитный рефлекс Парина).

Второй этап – аорта, брахиоцефальный ствол (БЦС), общая сонная артерия (ОСА), обеспечение начального пути нормального кровотока к мозгу по магистральным сосудам.

Третий этап – множественные интракраниальные подразделения, специализирующиеся на обеспечении безопасности кровоснабжения участков и структур мозга в пределах их локального кровообращения.

Четвертый этап – коллектор артерий, непосредственно прилегающих к мозгу, который поддерживает нормальное кровообращение и максимально удален от комплекса «сердце–легкие» (Виллизиев круг).

Реальная структура системы кровоснабжения мозга приведена на рисунке, *б*. Отчетливо видны супрааортальные магистральные сосуды: справа – БЦС, слева – ОСА и основание позвоночной артерии. На основании мозга тоже имеются крупные ветвления: передняя, средняя и задняя мозговые артерии, концевая часть позвоночной артерии, переходящая в базилярную. В центре основания мозга эти артерии образуют Виллизиев круг. От них идет сеть мелких сосудов, непосредственно кровоснабжающих структурные образования мозга.

Отток крови осуществляется в обратном порядке: по «этажам» венозной сосудистой системы от мозга к базовому системному комплексу «сердце–легкие».

Так, в нашем понимании, выглядит реальная структурная картина защитного единства комплекса «сердце–легкие, сосуды и кровь» в сопоставлении с абстрактно-геометрической моделью ветвления сосудов, обеспечивающих кровоснабжение мозга.

Превентологический принцип распознавания ТИА. Прогнозно-диагностический подход к распознаванию этиопатогенетических подтипов ТИА основывается на концепции «нейроинтеллектуальной превентологической системы индивидуализированного прогнозирования этиопатогенетических подтипов ТИА». Как сформированное направление в неврологии, она базируется на общих представлениях о предболезни (преморбидном состоянии), общих неврологических

принципах, на основах клинической превентологии и нейроинтеллектуальных принципах нейросетевого моделирования [2, 4–9, 15–18, 20, 21, 24–29].

Вся прогнозно-диагностическая работа по индивидуализированной, дифференцированной по этиопатогенетическим подтипам ТИА осуществляется в рамках обобщающего принципа «социальной компенсации». Этот принцип обязывает работать на опережение развития патологического процесса. Основное внимание фокусируется не на последствиях болезни, а на таких составляющих здоровья, как физическое, духовное, интеллектуальное, эмоциональное состояние, на недопущении возникновения заболевания в любой его форме. В этом мы усматриваем кардинальное отличие нейроинтеллектуального превентологического подхода, который дополняет клинико-лабораторные данные новыми информационно-математическими сведениями.

Синтез теории хаоса и нейронных сетей в прикладной нейроматематике. В основе нейроматематического подхода и соответствующего формального описания лежит современное понимание структурно-функционального строения головного мозга, состоящего из множества сплетений нейронов. Сеть нейронов головного мозга – прототип искусственных нейронных сетей с соответствующим нейроматематическим описанием.

Функционально-структурной единицей искусственной нейронной сети (ИНС) является формальный нейрон. Это процессорный элемент, преобразователь данных, который получает входные данные и преобразует их в соответствии с заданной функцией и параметрами.

Формальные нейроны различаются по функциональной принадлежности.

Входной нейрон – формальный нейрон входного слоя, выполняющий в конкретной нейронной сети функцию входа, т. е. воспринимающий сигналы (образы) только от внешней для данной системы среды. В медицинских исследованиях это, как правило, признаки-предикторы, на основе которых и будет осуществлено нейросетевое классификационное или прогнозное решение.

Промежуточный нейрон – составной элемент промежуточного слоя правил (их может быть несколько), где формируются рабочие гипотезы по распознаванию образов (диагнозов).

Выходной нейрон – преобразованный нейрон выходного слоя, несущий передачу информации о проведенном решении распознавания образа. Количество выходных нейронов (диагнозов) меньше числа входных (признаков-предикторов).

Нейронная сеть – вычислительная или логическая схема, которая построена из нейронных процессорных элементов, содержащих правила решений, и работает по соответствующему нейросетевому алгоритму. Последний учитывает и такое свойство биологического нейрона, как пластичность, способность изменять свои параметры в процессе обучения и приобретения новых знаний. Существует большое количество нейронных сетей различного предназначения. В настоящее время разработано множество различных типов ИНС и ансамблей их параллельного и последовательного соединения для решения различных задач по распознаванию образов, в том числе и для медицинской диагностики.

Один из вариантов таких ИНС используется в нашем исследовании по дифференциальному распознаванию подтипов ТИА. Этот ансамбль ИНС составлен из рециркуляционной нейронной сети, где осуществляется предварительная обработка исходных диагностических данных (жалобы, симптомы, другие признаки) с последующим сжатием диагностической информации, и многослойного персептрона. Исходная диагностическая информация (38 признаков-предикторов) конвертируется и сжимается до 11 диагностических компонент. Сам процесс распознавания осуществляет персептрон. Дифференцируются три подтипа ТИА и состояние ПРОЧИЕ.

Обучение нейронной сети. Важное свойство нейронных сетей – это их способность к обучению. В процессе обучения на вход такой нейронной сети подаются случаи (клинические наблюдения) с соответствующими признаками и симптомами в рамках рассматриваемых (дифференцируемых) диагнозов. Они способны улавливать структурные нюансы исходных независимых переменных (т. е. все тех же признаков-предикторов рассматриваемых диагнозов) и делать соответствующие обобщения с последующим принятием прогностических решений. Существуют различные парадигмы обучения, которые можно разделить на обучение с учителем и без него. Процесс самообучения «без учителя» нейронной сети динамичен, он как бы оживает, становясь «самому себе учителем». В качестве такой сети может использоваться сеть Кохонена, которая

состоит из одного входного и одного выходного слоя нейронов. Их количество в выходном слое непосредственно определяет, сколько различных кластеров (диагнозов, дифференцируемых диагнозов) следует распознать.

Каждый из выходных нейронов получает на вход весь входной вектор (т. е. принятые в рассмотрение признаки-предикторы). Между выходными нейронами начинается соперничество за право быть задействованными в процессе самообучения, обучиться и получить право обозначить соответствующий диагноз (дифференциальный диагноз). В этой конкуренции выигрывает тот из выходных нейронов с приписанным к нему диагнозом, чей весовой вектор окажется ближе всего к набору принятых в рассмотрение признаков-предикторов. Проще говоря, в клиническом толковании, в этом конкурентном процессе самообучения выигрывает тот выходной нейрон-диагноз, который оказывается наиболее представительным, сродственным принятому к рассмотрению набору признаков-предикторов. И, таким образом, данному клиническому случаю выставляется соответствующий клинический диагноз из числа рассматриваемых. Обученная нейронная сеть каждый вновь поступивший на рассмотрение клинический случай уже сама соотносит к одному из выведенных ею диагнозов-кластеров, руководствуясь некоторым выработанным и усвоенным критерием «близости».

Таким образом, в результате обучения большое количество разрозненных клинических случаев с различными жалобами, симптомами, синдромами, исходно представленных в беспорядочном (хаотизированном) виде, могут быть сгруппированы и классифицированы в меньшем количестве кластеров, внутри которых они уже упорядочены по клинико-диагностическому содержанию.

Принцип «социальной компенсации». Основоположником этого принципа считают немецкого экономиста Альфреда Мюллер-Армака (1947). Изначально этот принцип позиционировался как «социальное рыночное хозяйство» и формировался на принципах экономики, социологии, политики. Затем к нему начали проявлять интерес специалисты в области образования и здравоохранения и начало выкристаллизовываться объединение и сочетание этих дисциплин (социальная медицина, страховая медицина и т. д.). Теперь этот принцип охватывает обширную область жизнедеятельности человека – социологию и здравоохранение, конкретизируясь в понятии «социальная медицина».

Непосредственно роль медико-клинического аспекта здесь довольно скромная, но именно он и представляет интерес в разработке методов профилактики цереброваскулярных заболеваний с учетом социальной активности индивида. Сам принцип «социальной компенсации» призван по возможности отвлечь человека от медицинской проблематики и вернуть его в область нормальной социальной жизни. На современном уровне эта тенденция конкретизируется в нормативных документах ВОЗ [30, 31].

Духовность и нравственность в концепции «нейроинтеллектуальная превентология». Авторы публикаций по прогнозированию, диагностике, лечению заболеваний уделяют скромное место такому понятию, как «духовность», считая его нечто само собой разумеющимся и поэтому не привносящим никакой дифференциально-диагностической информации. А между тем в рамках нейропревентологической концепции «духовность» рассматривается как основной и неотъемлемый компонент защиты нормального кровоснабжения мозга. Здесь, наравне с соматической неврологической патологией, духовное и психотическое состояние пациента в одном ряду с другой симптоматикой и обязательно учитывается в дифференциальной диагностике с последующим проведением превентологических мероприятий. При использовании термина «превентивный» предусматривается личная ориентация и более высокая ответственность индивида за свое физическое, нервно-психическое и духовное благополучие. Речь идет о смене акцентов в научной и практической деятельности и переходе от общества к конкретному человеку. «Состояние нервно-психического и соматического здоровья человека обуславливается его духовностью, совокупностью выбранных им из социальной среды и воплощаемых в жизнь ценностных ориентаций индивидуальности и личности и обеспечивается осуществлением психофизиологических процессов, организуемых и поддерживаемых функциональными системами генома» [26]. Акцент смещается от унификации и стандартизации к индивидуализированным превентивным профилактическим мероприятиям. Это исходит из индивидуальных интересов

пациента – избежать возникновения и дальнейшего развития заболевания [25–27]. В некоторых зарубежных разработках учитывается и конфессиональная ориентация индивида.

Клиническая реализация концепции «нейроинтеллектуальной превентологии» осуществляется по специально разработанной прогнозно-диагностической системе индивидуализированного распознавания этиопатогенетических подтипов ТИА [4–9, 15, 16, 20, 21].

Практическое использование формализованной схемы защиты кровоснабжения мозга. Приступая непосредственно к разработке рабочей прогнозной системы, имеющиеся логико-клинические и неврологические анамнестические данные необходимо выразить математически (алгебраическими символами), т. е. содержание свести к форме – формализовать. Составлена анкета-опросник первичного обследования пациента с подозрением на ТИА. Методологической базой достижения этой цели является прогнозирование по нейроинтеллектуальной технологии с использованием нейросетевых моделей. По обозначенным пациентом градациям признаков-предикторов осуществляется дифференцированный прогнозно-диагностический процесс с помощью компьютерной нейросетевой технологии с занесением данных пациента.

В проводимом исследовании дифференциация прогнозных диагнозов ТИА осуществляется по трем этиопатогенетическим подтипам – атеротромботическому, кардиоэмболическому, гипертензивному, а также по классу «неТИА». Последний включает в себя различные возможные состояния, не укладывающиеся в типичные СубТИА 1–3, и состояние ПРОЧИЕ («неТИА») [5–9, 16, 17, 20, 21]. Система рассчитана на работу в приемных отделениях и в клинических условиях и ориентируется преимущественно на анамнестические данные, имеющиеся на руках у пациента результаты обследований, выписки, которые не требуют значительных затрат времени и средств, но по которым можно установить предварительный диагноз с высокой точностью (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Точность распознавания по обучающей и тестовой выборке

Общее к-во случаев		Доля случаев распознавания	
обучающих	тестовых	на обучающей выборке	на тестовой выборке
90	24	100 %	78 %

Тестирование проведено по методу обратного распространения ошибки (back propagation algorithm), точность совпадения диагнозов обучающей и тестовой выборки составила 78 %.

Обследовано 156 пациентов, у которых, по анамнестическим данным, отмечались или в той или иной степени были возможны ТИА.

Гендерно-возрастное распределение пациентов по возрастным категориям приведено в табл. 2, в табл. 3 приведены статистические данные по гендерно-возрастному составу (средний возраст – 52 года).

Т а б л и ц а 2. Гендерно-возрастное распределение пациентов

Возрастная категория	Женщины	Мужчины	Всего
20–39 лет	16 (10,25 %)	6 (3,85 %)	22 (14,10 %)
40–49 лет	35 (22,44 %)	13 (8,33 %)	48 (30,77 %)
50–59 лет	29 (18,60 %)	23 (14,74 %)	52 (33,34 %)
60 лет и старше	12 (7,70 %)	22 (14,10 %)	34 (21,80 %)
Всего	92 (59,00 %)	64 (41,02 %)	156 (100 %)

Т а б л и ц а 3. Статистические данные по гендерно-возрастному составу

Пациенты	Статистические показатели возраста, лет		
	min	max	Среднее значение
Женщины (n = 92)	24	77	49
Мужчины (n = 64)	23	75	55,4
Всего (n = 156)	23	77	52

В разработанной прогнозной системе диагноз не клинический, а виртуальный. Он предупреждает только о возможной его реализации и указывает на необходимость принятия своевременной лечебно-профилактической коррекции.

Фрагмент вычисления прогнозных значений приведен в табл. 4.

Т а б л и ц а 4. Фрагмент вычисленных прогнозных значений

Пациент (пол, возраст)	Возможность реализации прогнозного диагноза ТИА, дифференцированного по подтипам, %			Состояние «неТИА» (НОРМА)
	Атеротромботический	Кардиоэмболический	Гипертензивный	
1 (мужчина 46 лет)	80,06	12,97	6,97	0
2 (женщина 49 лет)	95,23	4,77	0	0
3 (мужчина 55 лет)	8,77	87,35	3,88	0
4 (женщина 47 лет)	0	92,97	2,33	4,7
5 (мужчина старше 60 лет)	0,17	3,79	96,04	0
6 (женщина 60 лет)	0,93	5,14	93,93	0
7 (женщина 47 лет)	12,09	4,76	0	83,15
8 (мужчина 50 лет)	20,09	16,56	29,77	33,58

П р и м е ч а н и е. Составлено для всех 156 случаев.

В некоторых случаях получены высокие (до 96,04 %), почти достоверные значения вероятностей прогнозных дифференцированных по подтипам ТИА диагнозов. Фактически это высокая степень риска, но никак не обязательная реализация угрозы последующего ТИА (табл. 4). Как следует из таблицы, при наиболее вероятном атеротромботическом прогнозе подтипа ТИА (табл. 4, пациенты 1 и 2) основной акцент делается на рекомендации по диете и биологически активным добавкам. С целью предотвращения дальнейших сердечно-сосудистых атеросклеротических осложнений особое предпочтение следует отдавать рыбьему жиру. Необходимо следить за состоянием магистральных сосудов. В некоторых случаях показано оперативное вмешательство на каротидных артериях.

При кардиоэмболическом прогнозе (табл. 4, пациенты 3 и 4) также следует выполнить тщательное ультразвуковое исследование магистральных сосудов БЦС и ОСА. Необходимо сфокусировать внимание на состоянии структуры сердечной мышцы и полостей, выявить или исключить наличие малых аномалий, дуги аорты, незаращение овального окна. В некоторых случаях предлагается оперативное вмешательство.

При гипертензивном прогнозе (табл. 4, пациенты 5 и 6) рекомендуются соответствующие лабораторные исследования и лечебно-профилактические противогипертензивные мероприятия. В каждом отдельном случае они подбираются индивидуально. Этот подтип ТИА особенно чувствителен к подбору препаратов.

Повышенную настороженность следует проявить, если речь идет о наиболее вероятном прогнозе «неТИА» (НОРМА). Как правило, это особый индивидуальный случай, требующий тщательного обследования и многосторонних исследований (табл. 4, пациент 7).

Наименее эффективна распознавательная способность системы в случае, если значения прогнозных показателей близки (табл. 4, пациент 8). В таких случаях необходимы углубленные индивидуальные дополнительные исследования в специализированных учреждениях.

Заключение. К настоящему времени представления о концепции «нейроинтеллектуальная превентология» достаточно четко выкристаллизовались на основе базовых знаний по неврологии, клинической превентологии и информационно-интеллектуальных технологий.

Социальный нейробиологический акцент был достаточно четко озвучен уже в конце XIX и начале XX в. в работах Рамон-и-Кахала и Папеца (S. R. Cajal, 1899–1904; J. W. Papez, 1937) [32, 33]. В гистологических исследованиях того времени четко обозначено и доказано единство структуры и функции мозга как динамического процесса мышления, который изменяет нейронную организацию и приводит к ее реорганизации. В свою очередь, реорганизованные структуры мозга вносят изменения в его информационную продукцию. На современном уровне знаний о цере-

броваскулярной патологии это можно представить как фиксацию изменений материальной структуры мозга и всей многоплановой кардиопульмоноцереброваскулярной системы защитных механизмов под воздействием информационных влияний. Но выявление в динамике процесса структурно-функциональной реорганизации мозга в лабораторных условиях того времени было невозможно.

Аналогичная ситуация имеет место при использовании современных «хайтек»-технологий нейровизуализации. На современных нейровизуализационных снимках четко фиксируются уже произошедшие изменения, но пока ничего не известно о фиксации неустойчивого скоротечного динамического перехода из одного состояния в другое и обратно [34].

Самая актуальная проблема на сегодняшний день – это сохранение стрессоустойчивости в непростых и противоречивых социально-бытовых условиях современности. В нейропатфизиологическом аспекте это также факт многофункционального динамического взаимодействия информации и материальной структуры в процессе нейронной реорганизации. Интерес к этой теме и количество публикаций, посвященных различным ее аспектам, с каждым годом растет [1–9, 15–19, 23–28, 35–37]. Особо выделяют такое состояние, как «прегипертония» [2].

Структурно-функциональная кардиопульмоноцереброваскулярная система защиты нормального кровоснабжения мозга находится в постоянном динамическом развитии и совместно с жизнесберегающими немедикаментозными и медикаментозными мероприятиями нелинейно и стохастически в превентивно следящем режиме бесперебойно работает на предупреждение, обеспечивая стабильность (гомеостаз) и безопасность всего защитного комплекса.

Представленный превентологический подход к выявлению на доклинической стадии потенциальной угрозы возникновения ТИА основан на дифференциации по этиопатогенетическому подтипу и значительно оптимизирует тактику ведения пациента. Это значительно сокращает период между обследованием и назначением лечебно-профилактических мероприятий при первичном обследовании на достационарном уровне.

По обозначенным пациентом в анкете-опроснике градациям признаков-предикторов осуществляется дифференцированный прогнозно-диагностический процесс по компьютерной нейросетевой технологии с использованием нейросетевых моделей.

Список использованной литературы

1. *Апанель, Е. Н.* Проблема неопределенности и нестабильности в медицинских исследованиях / Е. Н. Апанель // Воен. медицина. – 2011. – № 2. – С. 13–18.
2. *Golovko, V.* Artificial Intelligence Methods in Diagnosis of Ischemic Stroke Diseases // V. Golovko, H. Vaitsekhovich // XV Inter. PhD Workshop OWD. – Wisla, 2013. – P. 484–489.
3. *Дусказиева, Ж. Г.* Особенности стрессоустойчивости пациентов с вегетососудистой дистонией / Ж. Г. Дусказиева // Мед. психология в России: электрон. науч. журн. – 2012. – № 3 (14).
4. *Верещагин, Н. В.* Системный подход в изучении нарушений мозгового кровообращения при атеросклерозе и артериальной гипертензии: результаты и перспективы / Н. В. Верещагин // Мозг: теор. и клин. аспекты. – М., 2003. – С. 521–533.
5. *Сидоренко, Г. И.* Новые горизонты профилактики сердечно-сосудистых заболеваний (дискуссионные аспекты донозологических вмешательств) / Г. И. Сидоренко, А. В. Фролов // Кардиология в Беларуси. – 2009. – № 5. – С. 21–25.
6. *Сидоренко, Г. И.* Творчество и медицина: поиск неочевидных решений / Г. И. Сидоренко. – Минск, 2002. – 164 с.
7. *Апанель, Е. Н.* Транзиторные ишемические атаки: системный анализ / Е. Н. Апанель // Вест. НАН Беларуси. Сер. мед. наук. – 2011. – № 1. – С. 81–90.
8. *Апанель, Е. Н.* Формализованная интерпретация модели защитных механизмов кровоснабжения мозга / Е. Н. Апанель // Воен. медицина. – 2013. – № 4. – С. 77–80.
9. Разработка модели распознавания образов для прогнозной диагностики транзиторных ишемических атак / Г. Ю. Войцехович [и др.] // Воен. медицина. – 2013. – № 1. – С. 148–151 (<http://neurosite.biz/stati/rmrodptdia.html>).
10. Fractal dynamics on physiology: Alterations with disease and aging / A. L. Goldberger [et al.] // Proceed. of the Nat. Acad. of Sci. (PNAS). – 2002. – Vol. 99, N 1. – P. 2466–2468.
11. *Goldberger, A. L.* Non linear dynamics for clinicians: chaos theory, fractals, and complexity at the bedside / A. L. Goldberger // Lancet. – 1996. – Vol. 347. – P. 1312–1314.
12. Компьютерная прогнозная диагностика транзиторных ишемических атак: приобретенный опыт и перспективы / Б. В. Дривотинов [и др.] // Клин. практика и здоровье. – 2014. – № 1. – С. 40–50 (http://neurosite.biz/stati/kpdtiapoip_201404.html).

13. *Смышчэк, В. Б.* Международная номенклатура нарушений, ограничений жизнедеятельности и социальной недостаточности: руководство по классификации болезней и причин инвалидности / В. Б. Смышчэк. – М.: РАМН; НИИ соц. гигиены, экономики и управления здравоохран. им. Н. А. Семашко, 1994.
14. *Смышчэк, В. Б.* Синдром социальной компенсации как новое понятие в медико-социальной экспертизе граждан Республики Беларусь / В. Б. Смышчэк, И. Е. Полуянова, Г. С. Северин // Мед. новости. – 2010. – № 12. – С. 6–9.
15. Применение нейронных сетей в диагностике ишемических атак. Открытые семантические технологии проектирования интеллектуальных систем (Open Semantic Technologies for Intelligent Systems, OTIS) / В. А. Головкин [и др.] // Материалы IV междунар. науч.-техн. конф. – Минск: БГУИР, 2014. – С. 487–490 (<http://neurosite.biz/stati/pnsvdia201403.html>).
16. *Головкин, В. А.* Нейросетевые технологии обработки данных для обнаружения аномалий в биомедицинских сигналах / В. А. Головкин // «Нейроинформатика-2012»: материалы XIV Всерос. науч.-техн. конф. Лекции по нейроинформатике. – М.: МИФИ, 2012. – С. 11–48 (<http://neurosite.biz/stati/pnsvdia201403.html>).
17. Фракталы и хаос в биологическом морфогенезе / В. В. Исаева [и др.]. – Владивосток: Дальнаука, 2004. – 162 с.
18. *Кульчицкий, В. А.* Нейрофизиология защитных рефлексов / В. А. Кульчицкий. – Минск, 1998. – 142 с.
19. *Мандельброт, Б.* Фрактальная геометрия природы / Б. Мандельброт. – М.: Ижевск, 2002. – 656 с.
20. *Papez, J. W.* A proposed mechanism of emotion. Arch. Neurol-Psychiatry / J. W. Papez. – 1937. – Vol. 38. – P. 725–743.
21. Do transient ischemic attacks with diffusion-weighted imaging abnormalities correspond to brain infarctions? / C. Oppenheim [et al.] // Am. J. Neuroradiol. (AJNR). – 2006. – N 27. – P. 1782–1787.
22. Определение фаз стресса в клинической кардиологии / Г. И. Сидоренко [и др.] // Кардиология. – 2012. – № 12. – С. 40–44.
23. Адаптивная нейро-нечеткая модель для дифференциальной диагностики подтипов транзиторных ишемических атак / Б. В. Дривотинов [и др.] // Воен. медицина. – 2007. – № 4. – С. 101–106 (<http://neurosite.biz/stati/annmdddp.html>).
24. Прогнозная диагностика транзиторных ишемических атак: лечебно-профилактическое предупреждение / Б. В. Дривотинов [и др.] // Мед. журн. – 2014. – № 1. – С. 9–15 (<http://neurosite.biz/stati/pdtialpp201401.html>).
25. *Трошин, В. Д.* Стратегия и тактика превентивной неврологии / В. Д. Трошин // Мед. альманах. – 2011. – № 1. – С. 37–44.
26. *Трошин, В. Д.* Духовная доминанта и старение организма / В. Д. Трошин // Бюл. сибир. медицины. – 2009. – № 3 (2). – С. 67–71.
27. *Шахов, Б. Е.* Клиническая превентология / Б. Е. Шахов, В. Д. Трошин. – М., 2011. – 736 с.
28. *Amutha, D. C.* Brain stroke classification based on multi-layer perceptron using watershed segmentation and gabor filter / D. C. Amutha, S. P. Rajagopalan // J. Theoret. & Appl. Informat. Technol. (JATIT). – 2013. – Vol. 56, N 2. – P. 2005–2013.
29. *Goldstein, L. B.* Stroke: Organizing the disorganized: improving TIA patient care / L. B. Goldstein // Nat. Rev. Neurol. – 2011. – Vol. 7, N 4. – P. 190–192.
30. *Shalkevich, V.* Prognostic symptomatology of transient ischemic attacks / V. Shalkevich, A. Mastykin, E. Apanel // Eur. J. of Neurol. – 1998. – Vol. 5, suppl. 3. – P. S96–S97.
31. *Павленко, С. М.* Проблемы саногенеза в лечебной и профилактической медицине / С. М. Павленко // Вопросы санологии. – Львов, 1968. – Вып. 2. – С. 7–10.
32. Is diffusion imaging appearance an independent predictor of outcome after ischemic stroke? / J. Wardlaw [et al.] // Neurology. – 2002. – N 59 (9). – P. 1381–1387.
33. *Сидоренко, Г. И.* Академик Парин глазами его ученика // Диагностика и лечение нарушений регуляции сердечнососудистой системы: материалы науч.-практ. конф. // Г. И. Сидоренко. – М., 2003. – С. 26–29.
34. Система прогнозирования возникновения мозговых инсультов и их профилактики: метод. рекомендации / А. Е. Семак [и др.]. – Минск, 1999. – 37 с.
35. *Дривотинов, Б. В.* Прогноз-диагностика транзиторных ишемических атак и их лечебно-профилактическое предупреждение / Б. В. Дривотинов, Е. Н. Апанель, А. С. Мاستыкин // Мед. журн. – 2006. – № 3. – С. 116–119.
36. Neural Network Model for Transient Ischemic Attacks Diagnostics / V. Golovko [et al.] // Optical Memory and Neural Networks (Information Optics). – 2012. – Vol. 21, N 3. – P. 166–176 (http://neurosite.biz/stati/csist_2011.html).
37. *Cajal, S. R.* Textura del sistema nervioso del hombre y los vertebrados / S. R. Cajal. – Madrid, 1899–1904.

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

АЛЕКСАНДР ВАСИЛЬЕВИЧ СУКАЛО

(К 65-летию со дня рождения)

В феврале 2016 г. исполнилось 65 лет со дня рождения заместителя Председателя Президиума НАН Беларуси, академика НАН, профессора, доктора медицинских наук, заслуженного деятеля науки Республики Беларусь, заведующего 1-й кафедрой детских болезней Белорусского государственного медицинского университета Александра Васильевича Сукало.

А. В. Сукало родился в г. Рогачеве в семье служащего. В 1969 г. поступил на педиатрический факультет Минского государственного медицинского института, который с отличием окончил в 1975 г.

Все годы обучения в институте Александр Васильевич был отличником учебы, именным стипендиатом: на 2-м курсе – им. Калинина, а на 3–6 курсах – им. Ленина.

Александр Васильевич был не только отличником, но много времени и сил отдавал общественной работе. В 1971–1974 гг. – секретарь комсомольского бюро педиатрического факультета, в 1974–1975 гг. – заместитель секретаря комитета комсомола, а в 1975–1978 гг. – секретарь комитета комсомола МГМИ. Активно участвовал в движении студенческих строительных отрядов, в художественной самодеятельности факультета и института. После окончания института Александр Васильевич – врач-интерн, затем ординатор УЗ «2-й ДКБ» г. Минска (1975–1978 гг.).

Интерес к науке начал проявлять еще со студенческих лет, занимаясь в научно-студенческом кружке на кафедре детской хирургии, а затем на кафедре факультетской педиатрии.

В 1981 г. закончил аспирантуру на 1-й кафедре детских болезней и был оставлен на кафедре ассистентом.

В 1989 г. избран доцентом кафедры. Работу на кафедре совмещал с обязанностями декана педиатрического факультета с 1988 по 1997 г.

Проблема детской нефрологии стала основой его научно-исследовательской деятельности. В декабре 1982 г. Александр Васильевич под руководством доктора медицинских наук, профессора И. Н. Усова защитил диссертацию на тему «Клинико-иммунологическая характеристика и профилактика рецидивов гломерулонефрита у детей» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. В 1995 г. защитил диссертацию на тему «Первичный гломерулонефрит у детей Беларуси в современных экологических условиях (клинико-экспериментальное исследование)» на соискание ученой степени доктора медицинских наук.

В 1994 г. Александр Васильевич избран заведующим 1-й кафедры детских болезней МГМИ, которую возглавляет по настоящее время. В 1996 г. ему присвоено звание профессора.

Александр Васильевич – талантливый педагог и лектор. Его лекции и занятия характеризуются глубоким содержанием и практической направленностью, современными научными данными, лаконичностью и доступностью.



Александр Васильевич много внимания уделяет научной работе. Сотрудники его кафедры занимаются такими проблемами, как детская гастроэнтерология, пульмонология, аллергология и иммунология, другими разделами педиатрии. Основные же исследования проводятся по детской нефрологии и почечной заместительной терапии. Результаты научных исследований опубликованы почти в 600 работах, в том числе в 2 монографиях, 10 справочниках, более чем в 30 учебных и учебно-методических пособиях, инструкциях, методических рекомендациях, в том числе в таких научных изданиях, как “Clinical immunology” и “Pediatrics”.

Под его руководством подготовлены и защищены 22 кандидатские и 4 докторские диссертации. В 2014 г. под научным руководством А. В. Сукало была защищена докторская диссертация «Генетические и клинико-метаболические аспекты детского ожирения: ранняя диагностика, профилактика и лечение», выполненная доктором медицинских наук, профессором Анжеликой Викторовной Солнцевой, которая стала лауреатом конкурса на лучшую диссертацию 2015 г. в номинации «Медицинские и ветеринарные науки».

Александр Васильевич щедро делится своими знаниями, практическим опытом, читает лекции, проводит семинарские занятия по детской нефрологии с врачами г. Минска и всей республики. Он является главным внештатным специалистом МЗ РБ по детской нефрологии.

Александр Васильевич Сукало успешно сочетает научно-педагогическую и лечебную работу с организационной и общественной деятельностью. В 1997 г. по инициативе и с непосредственным его участием создан Республиканский центр детской нефрологии и почечной заместительной терапии. С 2005 г. в практику работы Центра внедрен метод перитонеального диализа, с 2009 г. – трансплантация почек детям.

Александр Васильевич – член бюро Отделения медицинских наук, председатель Государственного экспертного Совета по здравоохранению ГКНТ, член Ученого Медицинского Совета МЗ РБ, главный редактор журналов «Весті НАН Беларусі. Серыя медыцынскіх навук», «Педиатрия. Восточная Европа», член редакционной коллегии журналов «Медицинский журнал», «Медицинская панорама», «Репродуктивное здоровье в Беларуси», «Здравоохранение», «Нефрология» (Российская Федерация), рецензент ежегодника «Экологическая антропология», член Совета УО БГМУ и Совета педиатрического факультета.

В 2009 г. Александр Васильевич Сукало избран членом-корреспондентом НАН Беларуси, с 01.08.2012 г. Указом Президента Республики Беларусь А. Г. Лукашенко он назначен заместителем Председателя Президиума НАН Беларуси. В 2014 г. избран действительным членом (академиком) НАН Беларуси. Александр Васильевич отвечает в НАН Беларуси за вопросы социальной сферы, выставочную деятельность, научно-техническое сотрудничество с Китаем и Казахстаном, курирует Отделение медицинских наук и Отделение химии и наук о Земле.

Его плодотворная научно-педагогическая, врачебная и общественная деятельность в Республике Беларусь оценена по достоинству, о чем свидетельствуют многочисленные награды: медаль «За трудовые заслуги» (2007), Почетная грамота Комитета по здравоохранению Мингорисполкома (2009), Почетная грамота Министерства здравоохранения Беларуси (2011), почетные грамоты НАН Беларуси (2011, 2016), почетные грамоты ВАК Беларуси (2011, 2016), Почетная грамота Национальной Государственной телерадиокомпании Республики Беларусь (2011), орден святителя Кирилла Туровского II степени (2011), нагрудный знак «Отличник здравоохранения» (2012), орден Евфросиньи Полоцкой (2013), а также почетное звание «Заслуженный деятель науки Республики Беларусь» (2002).

Для своих сотрудников, учеников и коллег Александр Васильевич является примером высочайшего профессионализма, хранителем научных традиций, символом жизненного успеха.

Редколлегия