ISSN 1814-6023 (print)

ВЕСЦІ
НАЦЫЯНАЛЬНАЙ АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2016. № 4

ИЗВЕСТИЯ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2016. № 4

Журнал основан в 2004 г.

Выходит четыре раза в год

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,
свидетельство о регистрации № 393 от 18 мая 2009 г.

Входит в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований, включен в базу данных Российского индекса научного цитирования (РИНЦ)

Редакционная коллегия:

А. В. Сукало – заместитель Председателя Президиума Национальной академии наук Беларуси, академик, доктор медицинских наук, профессор (*главный редактор*)
И. В. Залуцкий – член-корреспондент, доктор медицинских наук, профессор (*заместитель главного редактора*)
Н. С. Сердюченко – академик-секретарь Отделения медицинских наук Национальной академии наук Беларуси, доктор медицинских наук, профессор (*заместитель главного редактора*)
В. Г. Колосовская (*ведущий редактор журнала*)

О. В. Алейникова – член-корреспондент, доктор медицинских наук, профессор
Ф. И. Висмонт – член-корреспондент, доктор медицинских наук, профессор
М. А. Герасименко – доктор медицинских наук, профессор
Ю. Е. Демидчик – член-корреспондент, доктор медицинских наук, профессор
С. Л. Кабак – доктор медицинских наук, профессор
Н. П. Митьковская – доктор медицинских наук, профессор
А. Г. Мрочек – академик, доктор медицинских наук, профессор
Д. Л. Пиневич – первый заместитель министра здравоохранения Республики Беларусь

О. О. Руммо – доктор медицинских наук, профессор
А. Ф. Смеянович – академик, доктор медицинских наук, профессор
А. Н. Стожаров – доктор биологических наук, профессор
Л. П. Титов – член-корреспондент, доктор медицинских наук, профессор
В. С. Улащик – академик, доктор медицинских наук, профессор

Редакционный совет:

Э. Алекнавичус – доктор медицины, профессор (Литовская Республика)
Д. Джурич – доктор медицины, профессор (Республика Сербия)
Т. П. Клюшник – доктор медицинских наук, профессор (Российская Федерация)
В. А. Кульчицкий – член-корреспондент, доктор медицинских наук, профессор (Республика Беларусь)
М.-А. Кусто – доктор медицины, профессор (Французская Республика)
А. И. Мартынов – академик, доктор медицинских наук, профессор (Российская Федерация)
Надольник Л. И. – доктор биологических наук (Республика Беларусь)
Р. Г. Оганов – академик, доктор медицинских наук, профессор (Российская Федерация)
Н. Д. Савенкова – доктор медицинских наук, профессор (Российская Федерация)
М. В. Угрюмов – академик, доктор биологических наук, профессор (Российская Федерация)
Марк М. Ван Гулле – профессор, университет Лёвена (Бельгия)
И. А. Чешик – кандидат биологических наук (Республика Беларусь)

Адрес редакции:
ул. Академическая, 1, к. 119, 220072, г. Минск, Республика Беларусь.
Тел.: + 375 17 284-19-19; e-mail: medvesti@mail.ru, vestimed.belnauka.by

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ.
Серия медицинских наук. 2016. № 4.
Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *В. Г. Колосовская*
Компьютерная верстка *Ю. А. Агейчик*

Подписано в печать 23.11.2016. Выход в свет 29.11.2016. Формат 60×84 $^{1}/_{8}$. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 56 экз. Заказ 228.
Цена номера: индивидуальная подписка – 10,28 руб., ведомственная подписка – 25,21 руб.

Издатель и полиграфическое исполнение:

Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий
№ 1/18 от 02.08.2013. ЛП № 02330/455 от 30.12.2013. Ул. Ф. Скорины, 40, 220141, г. Минск, Республика Беларусь

© РУП «Издательский дом «Беларуская навука».
Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук, 2016

ISSN 1814-6023 (print)

PROCEEDINGS
OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MEDICAL SERIES. 2016. No. 4

The Journal was founded in 2004

Periodicity is 4 issues per annum

Founder is the National Academy of Sciences of Belarus

The journal is registered on May 18, 2009 by the Ministry of Information of the Republic of Belarus in the State Registry of Mass Media, reg. No. 393

The Journal is included in The List of Journals for Publication of the Results of Dissertation Research in the Republic of Belarus and in the database of Russian Science Citation Index (RSCI)

Editorial Board:

A. V. Sukalo – Deputy Chairman of the Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Academician, D. Sc. (Med.), Professor (*Editor-in-Chief*)
I. V. Zalutsky – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor (*Associate Editor-in-Chief*)
N. S. Serdyuchenko – Academician-secretary Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus, D. Sc. (Med.), Professor (*Associate Editor-in-Chief*)
V. G. Kolosovskaya (*Managing Editor*)

O. V. Aleinikova – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor
F. I. Vismont – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor
M. A. Gerasimenko – D. Sc. (Med.), Professor
Yu. E. Demidchik – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor
S. L. Kabak – D. Sc. (Med.), Professor
N. P. Mitkovskaya – D. Sc. (Med.), Professor
A. G. Mrochek – Academician, D. Sc. (Med.), Professor
D. L. Pinevich – First Deputy Minister of Health of the Republic of Belarus
O. O. Rummo – D. Sc. (Med.), Professor
A. F. Smeyanovich – Academician, D. Sc. (Med.), Professor
A. N. Stozharov – D. Sc. (Biol.), Professor
L. P. Titov – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor
V. S. Ulashchik – Academician, D. Sc. (Med.), Professor

Editorial Council:

Eduardas Aleknavicius – M. D. (Lithuania)
Dragan Djuric – M. D., Ph. D., Professor (Republic of Serbia)
T. P. Klyushnik – D. Sc. (Med.), Professor (Russian Federation)
V. A. Kulchitsky – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor (Republic of Belarus)

M.-A. Custaud – M. D., Professor (French Republic)
A. I. Martynov – Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (Russian Federation)
L. I. Nadolnik – D. Sc. (Biol.) (Republic of Belarus)
R. G. Oganov – Academician, D. Sc. (Med.), Professor (Russian Federation)
N. D. Savenkova – D. Sc. (Med.), Professor (Russian Federation)
M. V. Ugryumov – Academician, D. Sc. (Med.), Professor (Russian Federation)
Mark M. Van Hulle – Professor, University of Leuven (Belgium)
I. A. Cheshik – Ph. D. (Biol.) (Republic of Belarus)

Address of the Editorial Office:

Akademicheskaya str., room 119, 220072, Minsk, Republic of Belarus.
Tel.: + 375 17 284-19-19; e-mail: medvesti@mail.ru, vestimed.belnauka.by

PROCEEDING OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS.

Medical series, 2016, No. 4.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *V. G. Kolosovskaya*
Computer imposition *Y. A. Aheichyk*

It is sent of the press 23.11.2016. Appearance 29.11.2016. Format 60×84$^{1}/_{8}$. Offset paper.
The press digital. Printed pages 14,88. Publisher's signatures 16,4. Circulation 56 copies. Order 228.
Number price: individual subscription – 10,28 byn., departmental subscription – 25,21 byn.

Publisher and printing execution:

Republican unitary enterprise "Publishing House "Belaruskaya Navuka".
Certificate on the state registration of the publisher, manufacturer,
distributor of printing editions No. 1/18 dated August 2, 2013. License for the press No. 02330/455 dated December 30, 2013.
Address : F. Scorina str., 40, 220141, Minsk, Republic of Belarus.

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka",
Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series, 2016

ISSN 1814-6023 (print)

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ И ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

Киселёв Л. П., Алейникова О. В. Долгосрочные показатели выживаемости детей и подростков с неметастатическими формами саркомы Юинга в Республике Беларусь 7

Романова И. В., Гончаров А. Е., Дударева Н. И. Оптимизация алгоритма гейтирования базофилов на проточном цитометре: многоцветный анализ 15

Мелик-Касумов Т. Б., Павлють Т. О., Жаворонок И. П., Антипова О. А., Пехтерева Е. И., Василькевич А. И., Кисель М. А., Молчанова А. Ю. Оценка антиноцицептивного действия амидов пальмитиновой кислоты 25

Дегтярев Ю. Г., Абу-Варда Я. Ф., Фомин О. Ю. Система оказания медицинской помощи детям с врожденной аноректальной патологией в Беларуси 32

Ролевич А. И. Безрецидивная выживаемость при раке мочевого пузыря без мышечной инвазии 44

Скуратов А. Г., Лызиков А. Н., Зиновкин Д. А., Чешик И. А., Петренев Д. Р. Морфометрические параметры регенерации печени при частичной гепатэктомии и трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в эксперименте 57

Луцкая И. К., Коваленко И. П. Лечение пациентов с неосложненным переломом коронки зуба с помощью сочетанного воздействия реминерализирующих препаратов и низкоинтенсивного лазерного излучения 66

Гуринович В. А., Омельянчик С. Н., Лукиенко Е. П., Бородина Т. А., Моргунова Е. М., Мойсеёнок А. Г. Риски метаболических нарушений при потреблении пальмового масла 77

Волошенюк А. Н., Сердюченко Н. С., Комаровский М. В., Воробей П. В. Эндопротезирование при тяжелых типах дисплазии тазобедренного сустава 89

АГЛЯДЫ

Иванов С. А., Шляга И. Д., Залуцкий И. В. Реконструкция наружного носа: история и современное состояние проблемы 96

Анацкая Л. Н., Забаровский В. К., Свинковская Т. В. Влияние вертеброгенных поясничных дорсалгий на нейропластичность головного мозга 103

Суркова Л. К., Слизень В. В., Залуцкая О. М. Молекулярно-генетические особенности возбудителя туберкулеза: связь с распространенностью, течением и исходом заболевания 114

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

Титов Леонид Петрович (К 70-летию со дня рождения) 126

ISSN 1814-6023 (print)

CONTENTS

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

Kisialeu L., Aleinikova O. Localized skeletal Ewing's sarcoma in the Republic of Belarus: long-term survival rates for pediatric patients 7

Ramanava I. U., Hancharou A. Y., Dudarava N. I. Optimization of basophil gating algorithm on flow cytometry: multicolor analysis 15

Melik-Kasumov T. B., Pavlut T. O., Zhavoronok I. P., Antipova O. A., Pehtereva E. I., Vasilkevich A. I., Kisel M. A., Molchanova A. Yu. Assessment of antinociceptive effects of palmitic acid amides 25

Degtyarev Ju. G., Abu Varda J. F., Fomin O. J. System care for children with congenital anorectal pathology in Belarus 32

Rolevich A. I. Recurrence-free survival in patients with non-muscle bladder cancer 44

Skuratov A. G., Lyzikov A. N., Zinovkin D. A., Cheshik I. A., Petrenyov D. R. Morphometric parameters of liver regeneration in case of partial hepatectomy and mesenchymal stem cells transplantation in experiment 57

Lutskaya I. K., Kovalenko I. P. Treatment of patients with uncomplicated fractures of the tooth crown with combined effects of remineralizing drugs and low-intensity laser radiation 66

Gurinovich V. A., Omelyanchik S. N., Lukienko Ye. P., Borodina T. A., Morgunova E. M., Moiseenok A. G. Risk of metabolic disorders at the consumption of palm oil 77

Voloshenyuk A. N., Serdyuchenko N. S., Komarovskiy M. V., Vorobei P. V. Hip replacement in severe types of dysplasia 89

SURVEYS

Ivanov S. A., Shlyaga I. D., Zalutsky I. V. Nasal reconstruction: history of the procedure and the current state of problem 96

Anatskaia L., Zabarovski V., Svinkouskaya T. Effect of low back pain on cerebral neuroplasticity 103

Surkova L. K., Slizen V. V., Zalutskaya O. M. Correlation between molecular-genetic characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* and prevalence, manifestation and outcome of disease 114

SCIENTISTS OF BELARUS

Titiv Leonid Petrovich (To the 70th Anniversary) 126

ISSN 1814-6023 (print)

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК 616-006.83-053.2-08 (091)(476)

Поступила в редакцию 18.04.2016
Received 18.04.2016

Л. П. Киселёв, О. В. Алейникова

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Республика Беларусь

ДОЛГОСРОЧНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВЫЖИВАЕМОСТИ ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С НЕМЕТАСТАТИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ САРКОМЫ ЮИНГА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Саркома Юинга (СЮ) – вторая по частоте встречаемости опухоль костной ткани у пациентов детского и подросткового возраста. Целью исследования была оценка долгосрочных показателей выживаемости при локализованных (неметастатических) формах СЮ и анализ характеристик пациентов с благоприятными и неблагоприятными исходами заболевания. В анализ включены 72 пациента с СЮ, получивших лечение в Республиканском научно-практическом центре детской онкологии, гематологии и иммунологии Республики Беларусь с 1999 по 2014 г. Для пациентов с локализованными формами СЮ 15-летняя общая выживаемость составила 64,6 %. Изученные клинико-патологические характеристики пациентов (пол, возраст, уровень лактатдегидрогеназы, размер и локализация опухоли и др.) не позволяли прогнозировать исход заболевания перед началом терапии.

Показатели долгосрочной выживаемости пациентов с локализованными формами СЮ в Беларуси соответствуют стандартам стран с развитой системой здравоохранения. Для своевременной коррекции плана системной терапии перед началом лечения необходимы новые маркеры для стратификации пациентов на группы риска.

Ключевые слова: саркома Юинга у детей, костная локализация, лечение, выживаемость.

L. Kisialeu, O. Aleinikova

Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Republic of Belarus

LOCALIZED SKELETAL EWING'S SARCOMA IN THE REPUBLIC OF BELARUS: LONG-TERM SURVIVAL RATES FOR PEDIATRIC PATIENTS

Ewing sarcoma (ES) is the second most common primary bone tumor in children. *The aim* of this study was to evaluate the clinical outcomes and long-term survival for pediatric patients with localized bone ES. 72 previously untreated patients with localized ES, reported to the sub-cancer registry database from 1999 to 2014, were evaluated. Survival rate was estimated via the Kaplan-Meier method and compared using log-rank tests and Cox proportional hazard models. 15-year overall survival was 64.6 %. Common clinical prognostic factors (age, sex, tumors volume, response to treatment and others) were not different between patients with favorable and unfavorable outcomes.

Treatment results for patients with localized ES from the Republic of Belarus comply with generally accepted standards. Searching for new predictive markers is necessary for early detection of resistant to conventional treatment patients.

Keywords: localized bone Ewing's sarcoma, pediatric patients, treatment, survival.

Введение. Саркома Юинга (СЮ) – вторая по частоте встречаемости опухоль костной ткани у пациентов детского и подросткового возраста. Современные подходы в методологической оценке злокачественных заболеваний открывают новые возможности для системного анализа онкопатологии в целом и новообразований костной ткани в частности [1–4]. СЮ, впервые описанная в 1921 г. Джеймсом Юингом [5] как эндотелиома кости, представлена фенотипом низкодифференцированных мелких округлых голубых клеток. У детей и подростков заболевание обнаруживается в основном в костях, однако для взрослых пациентов на первое место выходят мягкотканные локализации [5].

© Киселёв Л. П., Алейникова О. В., 2016

Частота встречаемости СЮ в популяции младше 18 лет составляет примерно 3 случая на миллион детского населения; имеет место некоторое предоминирование у лиц мужского пола (55 % мальчиков vs 45 % девочек) [5, 6]. От четверти до трети пациентов имеют метастатическое распространение (как правило, легкие, кости, костный мозг) и, соответственно, IV стадию онкологического процесса.

Традиционно факторами неблагоприятного прогноза заболевания являются в первую очередь наличие метастазов, а также плохой гистологический ответ опухоли на проведенную неоадъювантную (индукционную) химиотерапию [6, 7]. При неметастатических формах с худшим прогнозом ассоциируются центральная и тазовая локализации, большой объем новообразования, повышенный уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и более старший возраст пациента. Однако, поскольку эти параметры отличаются значительной вариабельностью, на сегодняшний день их значимость в прогнозировании неудовлетворительного исхода и выбора плана инициальной химиотерапии несущественна; в базовых современных протоколах лечения индукционная терапия, как правило, идентична у всех первичных пациентов [7, 8]. Несколько десятилетий назад, когда использовали только хирургический и/или лучевой методы, выживало не более 10 % пациентов с СЮ. Пациенты погибали в течение 2 лет от субклинических метастазов, что и обусловило необходимость применения системной терапии для курации болезни. Первые сообщения о монотерапии цитостатиком при СЮ появились в 1960-е годы, и к настоящему моменту используются несколько схем полихимиотерапии, которые позволяют достигнуть уровня выживаемости в 60–70 % [8]. Таким образом, несмотря на использование высокоинтенсивных химиотерапевтических режимов, почти у трети пациентов с локализованными формами заболевания развивается опухолевая резистентность [9, 11, 12]. Прогнозирование развития заболевания у таких пациентов на этапе инициальной диагностики дало бы основание для ранней коррекции терапевтического плана.

Цель исследования – анализ клинических исходов и оценка показателей долгосрочной выживаемости при локализованных форм костной саркомы Юинга у пациентов детского возраста.

Материалы и методы исследования. Использованы данные Детского суб-канцеррегистра, в котором с 1999 по 2014 г. были зарегистрированы 72 пациента с локализованными (неметастатическими) формами СЮ костной локализации, диагностированные в РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии (РНПЦДОГИ) – единственном в Беларуси учреждении для лечения детей и подростков до 18-летнего возраста [10]. При постановке диагноза использовали гистологический, иммуногистохимический и молекулярно-биологический методы. Пациентам осуществлялся локальный контроль (операция, операция + лучевая терапия, только лучевая терапия) и проводилось программное системное лечение. Использовали 4 режима системной химиотерапии. Режим А базировался на рекомендациях Европейского общества онкологов 1992 г.: использовались винкристин, доксорубицин, дактиномицин, этопозид, а также алкилирующие агенты ифосфамид и циклофосфамид в режиме рандомизации [11]. Индукционная схема режима В соответствовала рекомендациям американских детских онкологов для костной СЮ и подразумевала проведение в альтернирующем режиме блоков винкристин/доксорубицин/циклофосфамид и этопозид/ифосфамид [12]. Консолидирующая терапия режима В проводилась посредством высоких доз бусульфана и мелфалана с поддержкой периферической стволовой клеткой [13]. Режим С базировался на рекомендациях Европейского общества онкологов после 1999 г.: индукционные блоки были четырехкомпонентными (винкристин, доксорубицин, ифосфамид и этопозид), консолидирующая терапия была трехкомпонентной (винкристин, ифосфамид, актиномицин Д) [14, 15]. Для селективных пациентов режима D наряду с четырехкомпонентной индукцией и трехкомпонентной консолидацией применялась блокада ангиогенеза препаратом бевацизумаб на основании уровней маркеров ангиогенеза в ткани опухоли перед системной терапией.

После окончания лечения пациенты находились под наблюдением Детского суб-канцеррегистра Республики Беларусь с постоянным обновлением статуса. Длительность бессобытийной выживаемости (БСВ), общей выживаемости (ОВ) и кумулятивной вероятности рецидива исчисляли от времени постановки инициального диагноза.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы R-statistics версии 3.2.0, Foundation for Statistical Computing, лицензия GNU GPL. Для оценки статистической значимости различий между сравниваемыми количественными показателями использовали *U*-критерий Манна–Уитни, для сравнения в группах по индивидуальным параметрам – χ^2-тест. Кривые ОВ и БСВ выстраивали по методу Каплана–Мейера (Kaplan–Meier); для сравнительной оценки достоверности различий применяли логранговый критерий (log-rank test). Кумулятивную частоту возникновения событий рассчитывали методом конкурирующих рисков, различия кумулятивных частот оценивали с использованием теста Gray. Различия считали статистически значимыми при вероятности ошибки менее 5 % ($P < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. В 1,4 % случаев (1 из 72 пациентов) с локализованной костной СЮ констатирована смерть от инфекционных осложнений без признаков наличия рецидива.

В таблице представлены клинико-патологические характеристики пациентов с локализованными формами СЮ. На основании наличия или отсутствия рецидива/продолженного роста заболевания выделены две группы пациентов. Как видно из данных, представленных в таблице, в группе пациентов с рецидивом заболевания было больше мальчиков (56,5 % vs 39,6 %, разница статистически не значима). Наиболее частой локализацией первичного опухолевого очага в обеих группах были конечности. Обращает на себя внимание больший процент локализации опухоли в костях таза в группе пациентов с наличием ремиссии, хотя традиционно тазовая локализация расценивается как фактор худшего клинического исхода. Следует отметить, что во всех случаях возникновения опухоли в костях предплечья и малоберцовой кости наблюдался рецидив заболевания. Не констатировано значимых различий в проценте широких резекций, так же как и в относительном количестве пациентов, которым было выполнено хирургическое вмешательство. Лучевая терапия в качестве единственного метода местного контроля была выполнена в 52,4 % случаев в группе с рецидивами и в 43,7 % случаев в группе с благоприятными исходами заболевания локализованной СЮ. Отмечен больший удельный вес случаев использования протокола химиотерапии образца 1992 г. (13,0 % vs 4,2 %) в группе с неблагоприятными исходами заболевания. Не отмечено значимой разницы в относительном количестве пациентов с выраженным патоморфозом опухоли (≥90 %). Возраст пациентов, уровень ЛДГ, размер новообразования в наибольшем измерении и объем опухолевого очага варьировались в широких диапазонах и значимо не отличались при оценке медианных значений в сравниваемых группах (рис. 1).

Клинико-патологические характеристики пациентов

Характеристика	Пациенты с рецидивом ($n = 23$)		Пациенты без рецидива ($n = 48$)		*P*
	n	%	*n*	%	
Пол:					
мужской	13	56,5	19	39,6	0,1795
женский	10	43,5	29	60,4	
Анатомическая локализация:					
бедро	6	26,7	9	18,9	0,4785
большеберцовая кость	4	17,2	10	22,3	0,7330
малоберцовая кость	3	13,1	0	0	0,0105
стопа	2	8,6	2	4,2	0,4386
ключица	0	0	2	4,2	0,3207
лопатка	1	4,3	1	2,1	0,5894
ребро	0	0	3	6,3	0,2205
плечо	1	4,3	7	14,7	0,2018
предплечье	2	8,6	0	0	0,0382
кисть	0	0	1	2,1	0,4857
череп	2	8,6	1	2,1	0,1949
позвонки	0	0	3	6,3	0,2205
таз	2	8,6	9	18,9	0,2732
Операция:					
широкая резекция	6	26,1	16	34,1	0,5366
частичная резекция	4	17,4	10	20,1	0,7330
не выполнялась	13	56,5	22	45,8	0,3992

Окончание таблицы

Характеристика	Пациенты с рецидивом (n = 23)		Пациенты без рецидива (n = 48)		P
	n	%	n	%	
Локальный контроль:					
только операция	7	33,3	15	31,3	0,9446
операция и облучение	3	14,3	12	25,0	0,2481
только облучение	11	52,4	21	43,7	0,7467
Гистологический ответ:					
некроз ≥90 %	5	83,4	16	76,2	0,3165
некроз <90 %	1	16,6	5	23,8	0,3896
Режим химиотерапии:					
A*	3	13,0	2	4,2	0,1713
B	12	52,3	16	33,6	0,1285
C	6	26,0	14	28,6	0,7872
D	2	8,7	16	33,6	0,0255

*Описание режимов химиотерапии приведено в разделе *Материалы и методы исследования*.

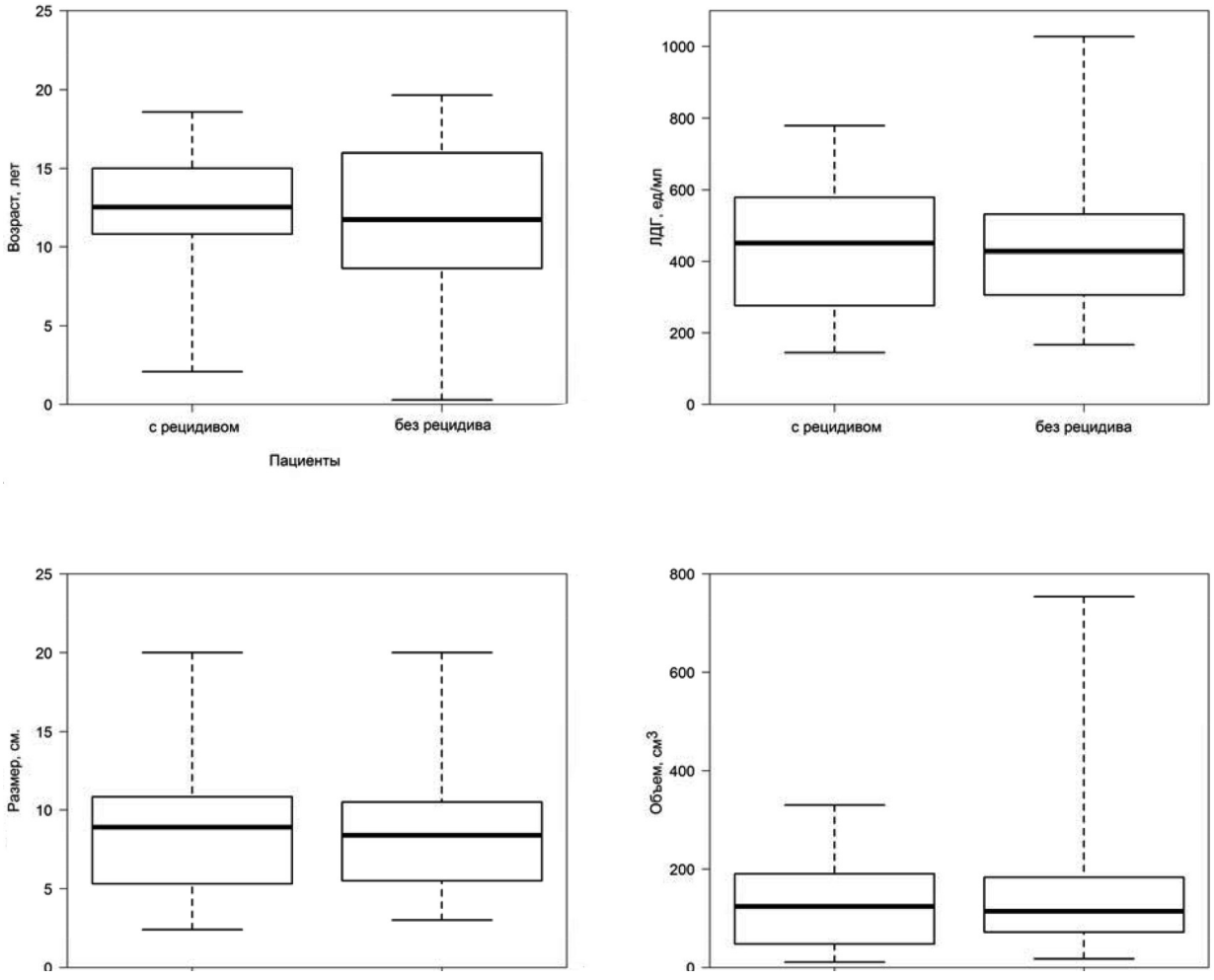


Рис. 1. Возраст, уровень ЛДГ, размер новообразования в наибольшем измерении и объем опухолевого очага у пациентов с рецидивом заболевания и находящихся в ремиссии

Fig. 1. Age, LDH level (lactate dehydrogenase), tumor volume and tumor size of patients with relapse and patients with no evidence of disease

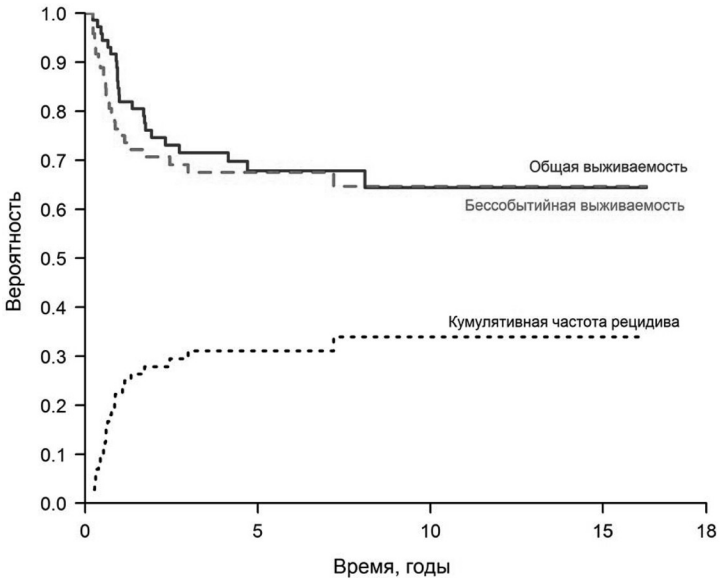


Рис. 2. ОВ, БСВ и КЧР пациентов (n = 72) с неметастатическими формами СЮ костной локализации (общая выживаемость – 49 живы [64,6 ± 6,4 %], бессобытийная выживаемость – 48 без события [64,5 ± 6,0 %], кумулятивная частота рецидива – 23 рецидива [33,9 ± 6,0 %])

Fig. 2. Overall survival, event-free survival and cumulative incidence of recurrence for non-metastatic patients (n = 72), with Ewing's sarcoma of bone (overall survival – 49 alive [64.6 ± 6.4 %], event-free survival – 48 without event [64.5 ± 6.0 %], cumulative incidence of recurrence – 23 relapsed [33.9 ± 6.0 %])

Для пациентов с локализованными формами СЮ костной локализации оценены показатели БСВ, ОВ и КЧР за 15-летний период наблюдения. Как представлено на рис. 2, долгосрочные показатели БСВ и ОВ всей когорты пациентов были практически идентичны и составили 64,5 и 64,6 % соответственно, КЧР – 33,9 %. Анализируя кривые выживаемости, следует отметить, что подавляющее большинство рецидивов происходило в первые 2 года после постановки диагноза; устойчивый выход на плато констатирован после 10-летнего периода наблюдения.

Таким образом, СЮ костной локализации составляет до 70 % от всех опухолей семейства этой нозологии и является второй по частоте встречаемости у детей и подростков. Лечение пациентов предусматривает местный контроль (операция и/или лучевая терапия) и полихимиотерапию. Современные результаты лечения значительно лучше таковых несколько десятилетий назад, но даже при использовании максимально токсичных схем около трети локализованных форм заболевания оказываются химиорезистентными и вызывают рецидив заболевания, как правило, в течение первых 2 лет от начала терапии. В настоящем исследовании представлены результаты лечения за 15-летний период наблюдения и осуществлен анализ клинико-патологических характеристик пациентов с благоприятными и неблагоприятными исходами заболевания. При оценке характеристик пациентов с рецидивом заболевания и находящихся в ремиссии констатирована сопоставимость сравниваемых групп по большинству исследуемых параметров. Такие параметры, как уровень ЛДГ и размеры новообразования, характеризуются значительным диапазоном и не могут однозначно характеризовать ту или иную сравниваемую когорту. В группе с неблагоприятными исходами заболевания несколько преобладали пациенты мужского пола. Наиболее частой локализацией первичного опухолевого очага в обеих группах были конечности. Обращает на себя внимание больший процент локализации опухоли в костях таза для группы пациентов с наличием ремиссии. Не отмечено разницы в относительном количестве случаев с выраженным посттерапевтическим патоморфозом. Констатировано, что сравниваемые параметры характеризуются значительным диапазоном и не могут однозначно предсказывать развитие химиорезистентности опухоли и возникновение рецидива заболевания.

При объединенной оценке клинических исходов 1519 пациентов с костной СЮ Appelbaum и соавт. [9] констатировали, что вероятность ОВ для локализованных форм составляет 62,6 %.

Данные зарубежных авторов свидетельствуют, что результаты БРВ и ОВ для локализованных форм заболевания колеблются в диапазоне 60–70 % для локализованных форм и остаются неудовлетворительными (<25 %) у пациентов с наличием метастатического поражения на момент постановки диагноза [7–9, 12–16].

Анализ долгосрочных показателей выживаемости пациентов в Республике Беларусь показал, что уровень ОВ и БСВ (64,5 и 64,6 %) сопоставим со стандартами стран с развитой системой здравоохранения. Необходимо учитывать, что централизация диагностических и лечебных мероприятий в одном высокоспециализированном учреждении позволяет увеличить вероятность благоприятных исходов для всех педиатрических пациентов с данной патологией.

Таким образом, можно констатировать, что современные варианты терапии достигли максимальной токсичности, но не могут превысить определенного уровня эффективности. На протяжении нескольких десятилетий отмечается, что около трети пациентов с неметастатическими формами заболевания оказываются нечувствительными к системной терапии, несмотря на использование различных цитостатических комбинаций. Известные клинические критерии не позволяют произвести отбор именно этих пациентов перед началом лечения для своевременной коррекции плана терапии для них. Согласно выводам Комиссии по изучению биомаркеров Детской Онкологической Группы (COG, Children's Oncology Group) Национального Института Здоровья США, на сегодняшний день отсутствует четкое понимание того, для каких локализованных форм СЮ терапия окажется эффективной, а для каких нет [16]. В связи с этим необходимый сегодня поиск новых технологий диагностики и лечения когорты пациентов с локализованной костной СЮ, вероятно, связан с опухолевыми молекулярными биомаркерами.

Заключение. Проанализированы результаты лечения 72 пациентов с локализованными формами костной СЮ РНПЦДОГИ Республики Беларусь за 15-летний период.

Показано, что долгосрочные показатели выживаемости пациентов детского возраста с СЮ костной локализации в Республике Беларусь соответствуют стандартам стран с развитой системой здравоохранения. Около трети пациентов с локализованными формами заболевания имеют резистентность к системной терапии, что требует поиска новых подходов для своевременной диагностики и коррекции терапевтического плана.

Список использованных источников

1. Достижения детской онкологии и гематологии в Республике Беларусь // О. В. Алейникова [и др.] // Актуальные вопросы детской онкологии и гематологии: материалы VIII междунар. симп. – Минск, 2000. – С. 3–8.

2. Суконко, О. Г. Организационно-методическая помощь, оказываемая государственным учреждением РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова организациям здравоохранения в Республике Беларусь / О. Г. Суконко, Н. А. Антоненкова // Онкол. журн. – 2011. – № 20. – С. 42–45.

3. Неоперируемый рак щитовидной железы: эффективность диагностики и выживаемость / Ю. Е. Демидчик [и др.] // Онкол. журн. – 2008. – № 8. – С. 9–21.

4. Роль молекулярных часов в патогенезе и терапии злокачественных новообразований / Э. А. Жаврид [и др.] // Мед. панорама. – 2011. – № 7. – С. 19–23.

5. Characteristics and outcomes of patients with Ewing sarcoma over 40 years of a geat diagnosis / E. E. Karski [et al.] // Cancer Epidemiol. – 2013. – N 37. – P. 29–33.

6. Prognostic factors in Ewing's tumor of bone: analysis of 975 patients from the European Intergroup Cooperative Ewing's Sarcoma Study Group / S. J. Cotterill [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2000. – N 18. – P. 3108–3114.

7. Prognostic factors for local and distant control in Ewing sarcoma family of tumors / C. Rodriguez-Galindo [et al.] // Ann. Oncol. – 2008. – N 19. – P. 814–820.

8. Analysis of prognostic factors in Ewing sarcoma using a population-based cancerregistry / J. Lee [et al.] // Cancer. – 2010. – N 116. – P. 1964–1973.

9. Clinical features and outcomes in patients with extraskeletal Ewing sarcoma / M. A. Applebaum [et al.] // Cancer. – 2011. – Vol. 117 (13). – P. 3027–3032.

10. Petrovich S., Aleĭnikova O., Shumikhina T. Epidemiological aspects of childhood onco-hematological morbidity in the Republic of Belarus] // Vopr. Onkol. – 2002. – Vol. 48 (3). – P. 301–305.

11. Rhabdomyosarcoma and undifferentiated sarcoma in the first two decades of life: a selective review of Intergroup Rhabdomyosarcoma Study Group experience and rationale for Intergroup Rhabdomyosarcoma Study V / R. B. Raney [et al.] // J. Pediatr. Hematol. Oncol. – 2001. – N 23. – P. 215–220.

12. Results of the EICESS-92 Study: two randomized trials of Ewing's sarcoma treatment – cyclophosphamide compared with ifosfamide in standard-risk patients and assessment of benefit of etoposide added to standard treatment in high-risk patients / M. Paulussen [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2008. – N 26. – P. 4385–4393.

13. Dose-intensified compared with standard chemotherapy for nonmetastatic Ewing sarcoma family of tumours: a Children's Oncology Group study / L. Granowetter [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2009. – N 27. – P. 2536–2541.

14. Impact of high-dose busulfan plus melphalan as consolidation in metastatic Ewing tumours: a study by the Societe Francaise des Cancers de l'Enfant / O. Oberlin [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2006. – N 24. – P. 3997–4002.

15. Safety assessment of intensive induction with vincristine, ifosfamide, doxorubicin and etoposide (VIDE) in the treatment of Ewing tumours in the EURO-E.W.I.N.G. 99 clinical trial / C. Juergens [et al.] // Pediatr. Blood Cancer. – 2006. – N 47. – P. 22–29.

16. Biomarkers in Ewing sarcoma: the promise and challenge of personalized medicine. A report from the Children's Oncology Group / S. Neerav [et al.]; The COG Ewing Sarcoma Biology Committee // Frontiers in Oncol. – 2013. – N 3. – P. 1–13.

References

1. Aleinikova, O. V., Potapnev, M. P., Sytskevich, O. N., Petrovich, S. V., Ismail-Zade, R. S. and Strongin, Y. S. (2000) "Advances Pediatric Oncology and Hematology in Belarus", *Topical issues of Pediatric Oncology and Hematology: Materials VIII Intern. Symp.* Minsk, BY, pp. 3-8.

2. Sukonko, O. G. and Antonenkova, N. A. (2011) "Organizational and methodological assistance provided by the state institution Republican Center of Oncology and Medical Radiology named N. N. Alexandrov for healthcare organizations in the Republic of Belarus", *Onkologicheskii zhurnal* [Cancer Journal], no. 20, pp. 42-45.

3. Demidchik, Y. Y., Pisarenko, A. M., Fridman, M. V., Baragina, Z. N., Mankovskaya, S. V. and Papok, V. E. (2011) "Impossible for operation thyroid cancer: effectiveness of diagnosis and survival", *Onkologicheskii zhurnal* [Cancer Journal], no. 8, pp. 9-21.

4. Zhavrid, E. A., Antonenkova, N., Prokhorov, V. I. and Lappo, S. V. (2011) "The role of the molecular clock in the pathogenesis and therapy of malignant tumors", *Meditsinskaya panorama* [Medical panorama], no. 7, pp. 19-23.

5. Karski, E. E., Matthay, K. K., Neuhaus, J. M., Goldsby, R. E. and Dubois, S. G. (2013) "Characteristics and outcomes of patients with Ewing sarcoma over 40 years of a geat diagnosis", *Cancer Epidemiology*, no. 37, pp. 29-33.

6. Cotterill, S. J., Ahrens, S., Paulussen, M., Jürgens, H. F., Voûte, P. A., Gadner, H. and Craft, A. W. (2000) "Prognostic factors in Ewing's tumor of bone: analysis of 975 patients from the European Intergroup Cooperative Ewing's Sarcoma Study Group", *Journal of Clinical Oncology*, no. 18, pp. 3108-3114.

7. Rodriguez-Galindo, C., Navid, F., Liu T., Billups, C. A., Rao, B. N. and Krasin, M. J. (2008) "Prognostic factors for local and distant control in Ewing sarcoma family of tumors", Annals of Oncology, no. 19, pp. 814-820.

8. Lee J., Hoang, B. H., Ziogas A. and Zell, J. A. (2010) "Analysis of prognostic factors in Ewing sarcoma using a population-based cancerregistry", *Cancer*, no. 116, pp. 1964-1973.

9. Applebaum, M. A., Worch, J., Matthay, K. K., Goldsby, R., Neuhaus, J., West, D. C. and Dubois, S. G. (2011) "Clinical features and outcomes in patients with extraskeletal Ewing sarcoma", *Cancer*, vol. 117 (13), pp. 3027-3032.

10. Petrovich, S., Aleinikova, O. and Shumikhina, T. (2002) "Epidemiological aspects of childhood onco-hematological morbidity in the Republic of Belarus", *Voprosy Onkologii*, vol. 48 (3), pp. 301-305.

11. Raney, R. B., Anderson, J. R., Barr, F. G., Donaldson, S. S., Pappo, A. S., Qualman, S. J., Wiener, E. S., Maurer, H. M. and Crist, W. M. (2001) "Rhabdomyosarcoma and undifferentiated sarcoma in the first two decades of life: a selective review of Intergroup Rhabdomyosarcoma Study Group experience and rationale for Intergroup Rhabdomyosarcoma Study V", *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, no. 23, pp. 215-220.

12. Paulussen, M., Craft, A.W., Lewis, I., Hackshaw, A., Douglas, C., Dunst, J., Schuck, A., Winkelmann, W., Köhler, G., Poremba, C., Zoubek, A., Ladenstein, R., van den Berg H., Hunold, A., Cassoni, A., Spooner, D., Grimer, R., Whelan, J., McTiernan A. and Jürgens, H. (2008) "Results of the EICESS-92 Study: two randomized trials of Ewing's sarcoma treatment – cyclophosphamide compared with ifosfamide in standard-risk patients and assessment of benefit of etoposide added to standard treatment in high-risk patients", *Journal of Clinical Oncology*, no. 26, pp. 4385-4393.

13. Granowetter, L., Womer, R., Devidas, M., Krailo, M., Wang, C., Bernstein, M., Marina, N., Leavey, P., Gebhardt, M., Healey, J., Shamberger, R. C., Goorin, A., Miser, J., Meyer, J., Arndt, C. A., Sailer, S., Marcus, K., Perlman, E., Dickman, P. and Grier, H. E. (2009) "Dose-intensified compared with standard chemotherapy for nonmetastatic Ewing sarcoma family of tumours: a Children's Oncology Group study", *Journal of Clinical Oncology*, no. 27, pp. 2536-2541.

14. Oberlin, O., Rey, A., Desfachelles, A. S., Philip, T., Plantaz, D., Schmitt, C., Plouvier, E., Lejars, O., Rubie, H., Terrier, P. and Michon, J. (2006) "Impact of high-dose busulfan plus melphalan as consolidation in metastatic Ewing tumours: a study by the Societe Francaise des Cancers de l'Enfant", *Journal of Clinical Oncology*, no. 24, pp. 3997-4002.

15. Juergens, C., Weston, C., Lewis, I., Whelan, J., Paulussen, M., Oberlin, O., Michon, J., Zoubek, A., Juergens, H. and Craft, A. (2006) "Safety assessment of intensive induction with vincristine, ifosfamide, doxorubicin and etoposide (VIDE) in the treatment of Ewing tumours in the EURO-E.W.I.N.G. 99 clinical trial", *Pediatr Blood Cancer*, no. 47, pp. 22-29.

16. Neerav, S., Joshua, D., Schiffman, D. R., Davis, I. J., Womer, R. B., Lessnick, S. L. and Lawlor, E. R. (2013) "Biomarkers in Ewing sarcoma: the promise and challenge of personalized medicine. A report from the Children's Oncology Group", *Frontiers in oncology*, no. 3, pp. 1-13.

Информация об авторах

Киселёв Леонид Петрович – канд. мед. наук, зав. онкогематологическим отделением № 3. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: leonslight@mail.ru

Алейникова Ольга Витальевна – чл.-кор. НАН Беларуси, д-р мед. наук, профессор, директор Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: aleinikova2004@mail.ru

Для цитирования

Киселёв, Л. П. Долгосрочные показатели выживаемости детей и подростков с неметастатическими формами саркомы Юинга в Республике Беларусь / Л. П. Киселёв, О. В. Алейникова // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – № 4. – С. 7–14.

Information about the authors

Leanid Kisialeu – Ph. D. (Med.), Chief of Oncology and Hematology department. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., v. Borovliany, 223053, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: leonslight@mail.ru

Olga Aleinikova – Corresponding Member of the National Academy of Sciences, D. Sc. (Med.), Professor, Director of Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., v. Borovliany, 223053, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: aleinikova2004@mail.ru

For citation

Kisialeu L., Aleinikova O. Localized skeletal Ewing's sarcoma in the Republic of Belarus: long-term survival rates for pediatric patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series*, 2016, no. 4, pp. 7–14.

ISSN 1814-6023 (print)
УДК 616:612.017.1

Поступила в редакцию 08.08.2016
Received 08.08.2016

И. В. Романова[1], А. Е. Гончаров[1], Н. И. Дударева[2]

[1]Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь
[2]10-я городская клиническая больница, Минск, Республика Беларусь

ОПТИМИЗАЦИЯ АЛГОРИТМА ГЕЙТИРОВАНИЯ БАЗОФИЛОВ НА ПРОТОЧНОМ ЦИТОМЕТРЕ: МНОГОЦВЕТНЫЙ АНАЛИЗ

Проанализировано 7 способов гейтирования базофилов с использованием многоцветного анализа на проточном цитометре. Показано, что наиболее эффективными и надежными способами гейтирования для проведения теста активации базофилов являются IgE^{hi} и $CD123^{+}HLA\text{-}DR^{-}$. Проведены исследования стабильности экспрессии маркеров идентификации базофилов в зависимости от статуса активации базофилов. Установлено, что молекулы IgE и CD123, в отличие от молекул CD203c и CD193, не имеют значимых различий в интенсивности экспрессии при аллергенспецифической активации базофилов. Количество примеси других популяций в регионе базофилов при гейтировании с использованием маркеров IgE^{hi} и $CD123^{+}HLA\text{-}DR^{-}$ минимально, что указывает на то, что данные маркеры идентификации могут быть с успехом использованы для проведения теста активации базофилов.

Ключевые слова: базофилы, гейтирование, проточная цитометрия, тест активации базофилов.

I. U. Ramanava[1], A. Y. Hancharou[1], N. I. Dudarava[2]

[1]Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus
[2]10th City Clinical Hospital, Minsk, Republic of Belarus

OPTIMIZATION OF BASOPHIL GATING ALGORITHM ON FLOW CYTOMETRY: MULTICOLOR ANALYSIS

Seven strategies of basophil gating were analyzed using multicolor flow cytometry. It was shown that the most effective and reliable gating strategies for BAT were IgE^{hi} and $CD123^{+}HLA\text{-}DR^{-}$. The stability of basophil identification markers depending on the activation status of basophils was assayed. It was established that IgE and CD123 molecules exhibited no significant difference unlike molecules CD203c and CD193. It was shown that the IgE^{hi} and $CD123^{+}HLA\text{-}DR^{-}$ regions had the lowest contamination by other cell subsets, which indicates that the both gating strategies may be used successfully for basophil activation test.

Keywords: basophils, gating strategy, flow cytometry, basophil activation test.

Введение. В настоящее время тест активации базофилов (ТАБ) зарекомендовал себя в качестве высокоперспективного метода для диагностики гиперчувствительности немедленного типа [1], однако для широкого внедрения данного метода в практическую медицину необходима его стандартизация. Спорным вопросом является выбор молекул, с помощью которых базофилы будут идентифицированы на проточном цитометре [2]. Учитывая, что для проведения теста активации базофилов крайне важно выделить максимально чистый регион базофилов, возникает необходимость оценить эффективность различных маркеров базофилов, используемых для их идентификации, а также наличие других клеточных популяций в регионе базофилов, которые в конечном итоге могут повлиять на результаты диагностики.

Ряд молекул, которые экспрессируют базофилы, может быть использован для идентификации последних с помощью проточного цитометра. Так, базофилы характеризуются экспрессией высокоаффинного рецептора к иммуноглобулину Е – FcεRI, перекрестное связывание которого комплексом специфического антигена (аллергена) с IgE приводит к дегрануляции клеток [3]. Кроме того, базофилы несут на своей поверхности хемокиновый рецептор CCR3 (CD193), отвечающий за направленную миграцию клеток в места аллергического воспаления [4]. Молекула

© Романова И. В., Гончаров А. Е., Дударева Н. И., 2016

CD294 является хемоаттрактантом и необходима для связывания простагландина D2 [5]. На базофилах присутствует α-цепь к рецептору ИЛ-3 (CD123), которая также экспрессируется на плазмацитоидных дендритных клетках [6]. Особое внимание заслуживает рецептор-экзофермент CD203c, экспрессируемый в периферической крови исключительно на базофилах [7]. Последние не экспрессируют другие популяционные (линейные) маркеры и молекулы главного комплекса гистосовместимости HLA-DR.

С целью выделения базофилов на проточном цитометре в настоящее время используются различные комбинации антител. Одним из самых первых подходов идентификации базофилов было их определение как IgE^{hi} клеток [8]. Однако в дальнейшем были предложены и другие молекулы для гейтирования базофилов, которые в настоящее время также используются различными исследователями [9]. Таким образом, с целью гейтирования базофилов можно выделить основные семь способов: 1) $CD123^{hi}$/$HLA\text{-}DR^{neg}$; 2) $CD3^{-}CD193^{+}$; 3) $CD193^{+}$; 4) $CD45^{dim}IgE^{bright}$; 5) IgE^{hi}; 6) $CD3^{-}CD294^{+}$; 7) $CD203c^{+}$. Каждый из них обладает своими преимуществами и недостатками.

Цель данного исследования – определить комбинацию молекул для максимально эффективной идентификации базофилов на проточном цитометре, а также оценить стабильность экспрессии в зависимости от состояния активации базофилов.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования являлись 15 образцов периферической крови, сенсибилизированных к домашней пыли, взятых у пациентов 10-й городской клинической больницы. Сенсибилизация пациентов подтверждалась результатами исследования специфического IgE (иммуноблот), а также постановкой кожных проб с аллергеном. Медианный возраст составил 27 (24–31) лет, соотношение женщины/мужчины – 1,4. Кроме того, исследовано 20 образцов периферической крови здоровых добровольцев, в анамнезе которых не отмечались аллергические реакции (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии). Пациенты обеих сформированных групп были сопоставимы по полу и возрасту. Забор крови из кубитальной вены в количестве 5–6 мл осуществлял средний медицинский персонал после получения информированного согласия пациента. Доставка пробирки с периферической кровью в лабораторию составляла не более 2 ч после забора крови.

Проточная цитометрия. Иммунофенотипирование базофилов проводили при помощи метода проточной цитометрии с использованием 8-цветного анализа. Кровь в количестве 100 мкл инкубировали с моноклональными антителами на протяжении 15 мин при температуре 4 ºС. Для идентификации базофилов на проточном цитометре использовали следующую панель антител: CD193 – BV421, клон 5E8 (BD, США); HLA-DR – V500, клон G46-6 (BD, США); IgE – FITC, клон 4H10 (ExBio, Чехия); CD123 – PE, клон SSDCLY107D2 (Beckman Coulter, США); CD294 – PerCP-Cy 5.5, клон BM16 (BD, США); CD45 – PE-Cy7, клон HI30 (BD, США); CD203c – APC, клон NP4D6 (ExBio, Чехия); CD3 – APC-Cy7. С целью оценки примеси в регионе базофилов при гейтировании разными способами использовали следующие две панели моноклональных антител:

1) HLA-DR – Pacific blue, клон Immu-357 (Beckman Coulter, США); CD45– Krome Orange, клон J.33 (Beckman Coulter, США); IgE – FITC, клон 4H10 (ExBio, Чехия); CD16 – PE, клон lnk16 (ExBio, Чехия); CD19 – PE, клон SJ25-C1 (Thermo Fisher Scientific, США); CD146 – PerCP-Cy 5.5, клон P1H12 (BD, США); CD11c – Pe-Cy7, клон B-ly6; CD203c – APC, клон NP4D6 (ExBio, Чехия); CD3 – APC-Cy7, клон SK7 (BD, США); CD14 – APC-Cy7, клон МфР9 (BD, США);

2) CD3 – FITC, клон UCHT1 (Beckman Coulter, США); CD19 – FITC, клон J3-119 (Beckman Coulter, США); CD14 – FITC, клон MEM-15 (Beckman Coulter, США); CD123 – PE, клон SSDCLY107D2 (Beckman Coulter, США); HLA-DR – PE-Cy 7, клон Immu-357 (Beckman Coulter, США); CD45 – APC, клон IM2473 (Beckman Coulter, США).

Стабильность экспрессии маркеров для гейтирования базофилов исследовали путем добавления специфического аллергена (домашняя пыль), при этом пробы инкубировали при 37 °С на протяжении 40 мин. Затем эритроциты лизировали раствором хлорида аммония и осаждали путем центрифугирования в течение 5 мин при 250 g, удаляли супернатант и суспендировали клетки в фосфатном буфере. Учет проводили на проточных цитометрах BD FACSCanto II и FACSCalibur. Данные анализировали при помощи программного обеспечения Weasel версии 3.0.2 и FACSDiva версии 7 [10, 11].

Статистический анализ. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программ Statistica версии 10 (StatSoft, США), StatPlus версии 4.9 (AnalystSoft, Канада), SPSS версии 22 (IBM, США) и GraphPadPrism версии 5.0.2 [12, 13]. Значения показателей представлены в виде Me (25–75), где Me – медиана, а 25 и 75 – интерквартильный размах в виде 25-й и 75-й процентилей. Нормальность распределения величин оценивали с использованием *W*-критерия Шапиро–Вилка. Учитывая отсутствие в большинстве исследованных выборок нормального распределения, для сравнения групп данных и изучения корреляционных взаимосвязей использовали непараметрические методы, для сравнения двух независимых выборок – *U*-критерий Манна–Уитни, для сравнения трех групп независимых данных – метод рангового анализа вариаций Краскела–Уоллиса. В случае, если уровень значимости составлял меньше 0,05, проводили парное сравнение данных между группами, используя метод Манна–Уитни. В качестве критерия достоверности различий показателей принимали уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. ***Идентификация базофилов методом проточной цитометрии.*** Учитывая небольшое количество базофилов в периферической крови, их идентификация на проточном цитометре требует учета большого количества событий, как правило, не менее 200 тыс. на опыт. Выбор оптимального способа гейтирования предполагает использование максимально возможного количества моноклональных антител в одной пробирке, поэтому учет результатов проводили с помощью 8-цветного анализа на проточном цитометре FACSCanto II.

Способы гейтирования оценивали в каждой пробе при помощи программного обеспечения FASCDiva. Учитывая возможности цитофлуориметра FACSCanto II, при анализе базофилов на цитограмме в координатах FSC-Area/FSC-Height исключали конгломераты (doublets). После этого выделяли регион мононуклеаров и путем логического гейтирования определяли эффективность разных молекул для идентификации базофилов. Оценивали эффективность ручного гейтирования базофилов, четкость разграничения кластера базофилов от других клеток.

Базофилы – единственные клетки периферической крови, несущие на своей поверхности полную тетратмерную форму высокоаффинного рецептора к IgE. Учитывая, что неполную форму рецептора к IgE в небольшом количестве экспрессируют и другие популяции (моноциты, В-клетки, мДК), на цитограмме SSC/IgE наблюдали две фракции IgE-позитивных клеток (рис. 1, *a*). Следовательно, для корректного выделения базофилов с использованием IgE необходимо захватывать в регион исключительно IgE^{hi}-клетки. Как показано на рис. 1, *b*, регион $CD123^{+}HLA\text{-}DR^{-}$ четко выделяется в пределах одной декады на шкале флуоресценции. Кластер $CD123^{+}HLA\text{-}DR^{-}$ расположен отдельно от других клеток, что позволяет без труда выделить регион.

В периферической крови CD203c экспрессируется исключительно на базофилах, следовательно, эта молекула может быть использована в качестве альтернативного способа идентификации базофилов (рис. 1, *c*) [14]. Однако довольно низкая интенсивность экспрессии CD203c (несмотря на достаточно яркий флуорохром в данном примере – APC) на нативных базофилах приводит к смешиванию региона базофилов с другими клетками. Ввиду слабого разделения популяций не захватывается фракция базофилов $CD203c^{low}$, что приводит к выделению значительно меньшего количества базофилов в регионе. С другой стороны, построение региона $CD203c^{+}$ без дополнительных маркеров может приводить к захвату $CD203c^{lo}IgE^{-}$ клеток, которые, судя по всему, не являются базофилами (рис. 1, *f*).

Молекула CCR3 (CD193) не является специфическим маркером и экспрессируется на поверхности многих клеток, ассоциированных с воспалением, включая базофилы, тучные клетки, Th2-лимфоциты. Выделение базофилов с помощью CD193 оправдано только с использованием моноклонального антитела к CD3 для исключения из учета Т-клеток (рис. 1, *d*).

Способ гейтирования $CD3^{-}CD294^{+}$ может быть применен только в случае добавления антитела к CD3 для исключения Т-лимфоцитов из учета. Однако и в данном случае низкая интенсивность свечения CD294 не позволяет корректно выделить регион базофилов, что может сказываться на результатах при постановке ТАБ (рис. 1, *e*).

Несмотря на то что CD203c является линейным маркером для базофилов, он активно используется в качестве маркера активации и при проведении ТАБ [15]. Экспрессия CD203c на базофилах резко увеличивается в процессе каких-либо манипуляций с периферической кровью, а также под

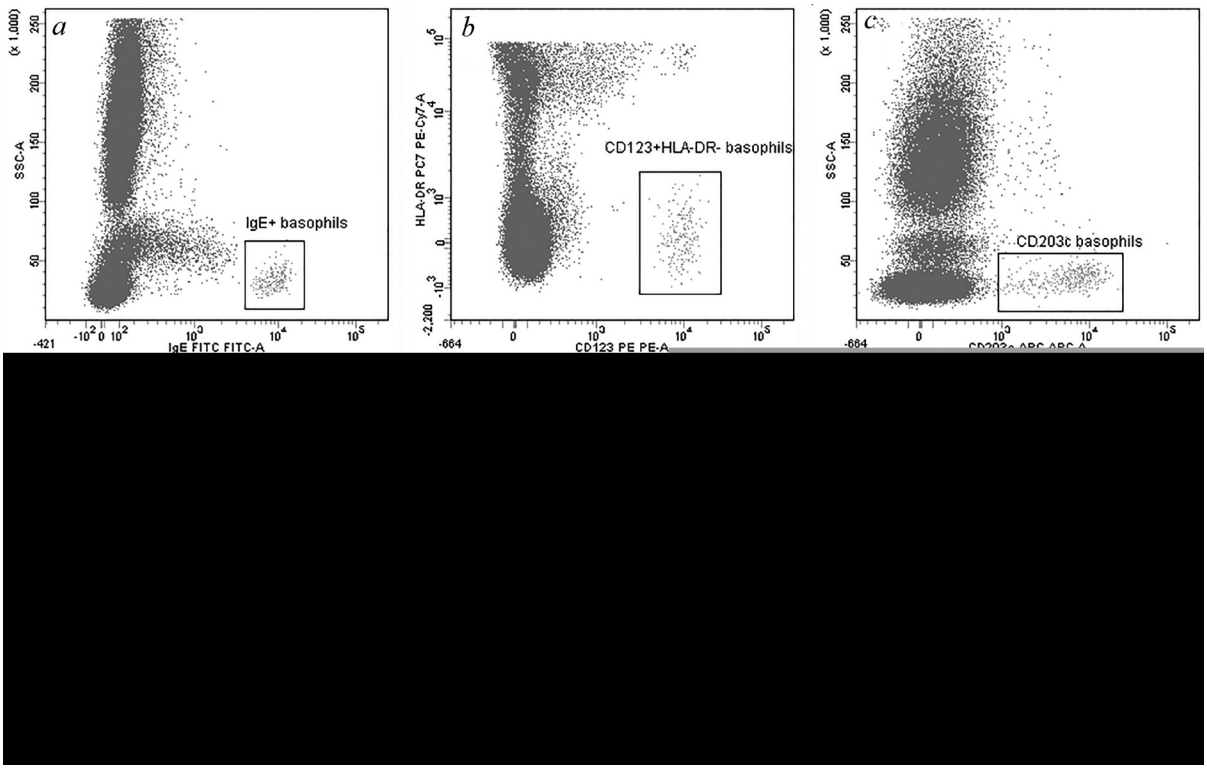


Рис. 1. Способы гейтирования базофилов с применением маркеров: SSClow/IgE^{hi} (*a*), CD123^{+}HLA-DR^{-} (*b*), CD203c^{+} (*c*), CD3^{-}CD193^{+}(*d*), CD3^{-}CD294^{+}(*e*) и выделение региона IgE^{+}CD203c^{+} (*f*). Стрелкой указана фракция CD203c^{lo}, не захватываемая при гейтировании только по данному маркеру

Fig. 1. Strategies of basophil gating: *a* – gating strategy SSC^{low}/IgE^{hi}, *b* – gating strategy CD123^{+} HLA-DR^{-}, *c* – gating strategy CD203c^{+}, *d* – gating strategy CD3^{-}CD193^{+}, *e* – gating strategy CD3-CD294^{+}, *f* – isolation of the IgE^{+} CD203c^{+} region. The arrow indicates the CD203c^{lo}fraction that is not captured during gating using one marker

воздействием стимулирующих базофилы веществ [16, 17]. При этом экспрессия CD203c характеризуется значительными индивидуальными различиями, на интенсивность влияют как манипуляции с образцом крови до учета на проточном цитометре, так и аутокринная секреция ИЛ-3 [14].

С целью выявления маркеров, наиболее подходящих для идентификации базофилов, рассчитывали индекс окрашивания, который представляет собой соотношение между интенсивностью свечения позитивного (окрашенные клетки) и негативного (неокрашенные клетки) пиков.

В технической литературе производители проточных цитометров наиболее часто приводят две формулы для расчета индекса окрашивания.

Первая из них представляет соотношение между разницей средней интенсивности флуоресценции позитивного и негативного пиков и стандартного отклонения негативного пика, умноженного на 2 [18, 19]:

$$\text{Индекс окрашивания} = \frac{MFI_{pos} - MFI_{neg}}{2\text{SD}_{neg}},$$

где *MFI* – средняя интенсивность флуоресценции, SD – стандартное отклонение.

Вторая является соотношением между разницей медианной интенсивности флуоресценции позитивного и негативного пиков и робастного стандартного отклонения негативного пика, умноженного на 2:

$$\text{Индекс окрашивания} = \frac{MedianFI_{pos} - MedianFI_{neg}}{2\text{rSD}_{neg}},$$

где *MedianFI* – средняя интенсивность флуоресценции, rSD – робастное стандартное отклонение.

С учетом того, что индекс яркости FITC составляет 3 усл. ед., а индекс яркости PE – 5 усл. ед., индекс разделения популяций для PE равен 5,49 усл. ед., что сопоставимо с полученным значением для FITC – 5,23 усл. ед.

Таким образом, индекс разделения популяций остается практически интактным вне зависимости от используемого флуорохрома. Данный пример демонстрирует возможность применения индекса разделения популяций для сравнительной оценки различных способов идентификации базофилов.

Расчет индекса разделения популяций показал, что наиболее высокое значение наблюдается при использовании способа идентификации базофилов как IgE^{hi}-клеток – 9,1 (4,6–14,9) усл. ед. (рис. 3). Несколько меньшее значение наблюдается при гейтировании способом $CD123^{+}HLA\text{-}DR^{-}$ – 5,9 (5,1–13,0) усл. ед. При этом достоверные различия в значении индекса разделения популяций между этими двумя способами гейтирования отсутствуют ($p = 0{,}975$).

Остальные способы гейтирования обладают гораздо более низкими показателями индекса разделения популяций. Выявлены достоверные различия между значениями индекса при гейтировании $CD123^{+}HLA\text{-}DR^{-}$ и IgE^{hi} с другими способами ($p < 0{,}01$), что говорит о том, что идентификация базофилов по данным молекулам приемлема с целью последующего проведения ТАБ.

Оценка стабильности экспрессии маркеров идентификации базофилов. Учитывая, что базофилы при выполнении ТАБ будут подвергаться воздействию различных активирующих веществ, для корректной идентификации базофилов и интерпретации результатов необходимо, чтобы молекулы, которые будут использованы для гейтирования базофилов, не изменяли интенсивность экспрессии в процессе активации. Гейтирование базофилов с использованием молекул, которые изменяют интенсивность своей экспрессии в процессе активации базофилов, приводило к увеличению примеси в регионе базофилов и/или к потере самих базофилов в выбранном регионе [21]. Оценку стабильности экспрессии молекул для гейтирования базофилов проводили путем добавления специфического аллергена для группы пациентов с аллергией на домашнюю пыль. Для исследования использовали ту же панель антител, что и для гейтирования неактивированных базофилов.

Расчет индекса окрашивания показал, что стабильность экспрессии не зависит от состояния активации базофилов и наблюдается для двух молекул: IgE и CD294 (см. таблицу). Интенсивность экспрессии молекулы CD123 имела тенденцию к снижению ($p = 0{,}068$). В то же время индекс окрашивания молекулы CD203c был значительно выше у базофилов, подвергшихся активации, в сравнении с неактивированными базофилами ($p = 0{,}043$). Достоверные различия индекса

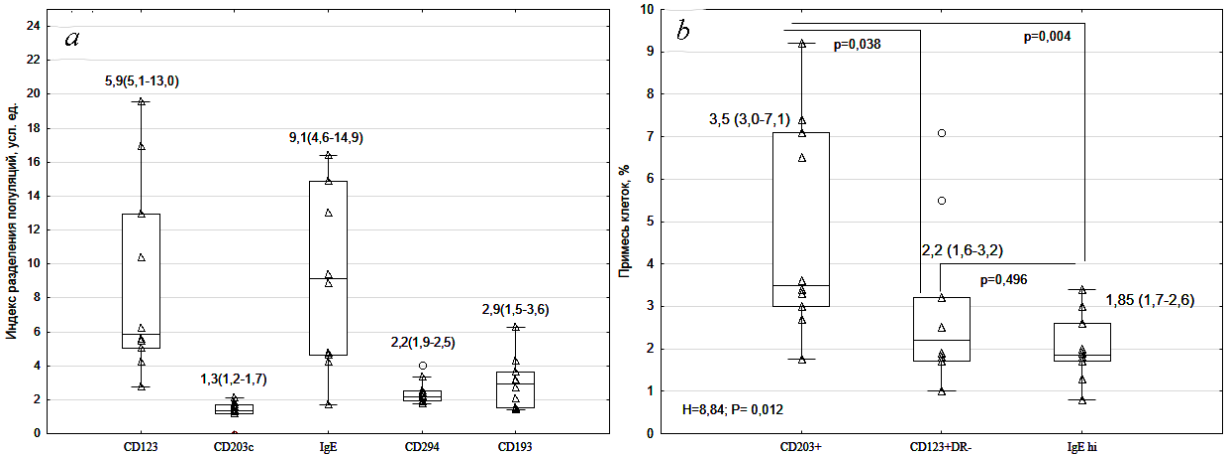


Рис. 3. Сравнительный анализ данных гейтирования базофилов: *a* – значения индекса разделения популяций у неактивированных базофилов при гейтировании разными способами; *b* – примесь других клеточных популяций в регионе базофилов при гейтировании разными способами

Fig. 3. Comparative analysis of the basophil gating data: *a* – values of the population separation index of cell population for the non-activated basophils gating at a variety of ways; *b* – impurity of other cell populations in the basophil regions with different gating strategies

окрашивания в зависимости от состояния активации наблюдались также для молекулы CD193, при этом в процессе активации происходило снижение интенсивности флуоресценции ($p = 0{,}043$). Снижение интенсивности экспрессии CD193 в процессе активации отмечалось также другими исследователями [21], что подтверждает полученные нами данные и свидетельствует о том, что выбор данного маркера для гейтирования базофилов не является оптимальным.

Значения индекса окрашивания маркеров при идентификации базофилов в зависимости от их функционального состояния (нативные и активированные)

Маркер	Функциональное состояние базофилов		*p*
	Нативные	Активированные	
IgE	80,6 (72,6–88,6)	80,4 (74,4–86,3)	0,345
CD123	52,2 (50,5–76,0)	48,7 (46,9–72,3)	0,068
CD294	11,5 (11,0–11,8)	10,3 (10,0–10,9)	0,138
CD203c	23,3 (20,5–23,4)	36,8 (35,6–42,1)↑	0,043
CD193	42,0 (41,8–42,5)	30,8 (30,4–35,2) ↓	0,043

Оценка примеси других клеточных популяций при гейтировании базофилов. Присутствие в выделенном регионе большого количества клеток, которые не экспрессируют маркеры активации базофилов и не являются базофилами, увеличивает вероятность ложноотрицательного результата при проведении ТАБ. Проведено исследование клеточной примеси в трех основных регионах, используемых для идентификации базофилов, – IgE^{hi}, $CD203c^{+}$, $CD123^{+}/HLA\text{-}DR^{-}$. Панель антител составлена таким образом, чтобы максимально оценить вклад всех возможных клеток в регионе базофилов, а именно пДК, мДК, Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов.

Несмотря на то что молекула CD203c является специфическим маркером базофилов ввиду низкой экспрессии CD203c, при выделении региона захватывается ряд других клеток. При этом в регионе $CD203c^{+}$ присутствуют преимущественно В-лимфоциты, пДК и небольшое количество мДК, а Т-лимфоциты отсутствуют. Количество контаминирующих клеток составляет 3,5 (3,0–7,1) %.

Базофилы отличаются высокой экспрессией на своей поверхности полной тетрамерной формы рецептора к IgE. На цитограмме в координатах SSC/IgE четко выделяется кластер IgE^{hi} клеток,

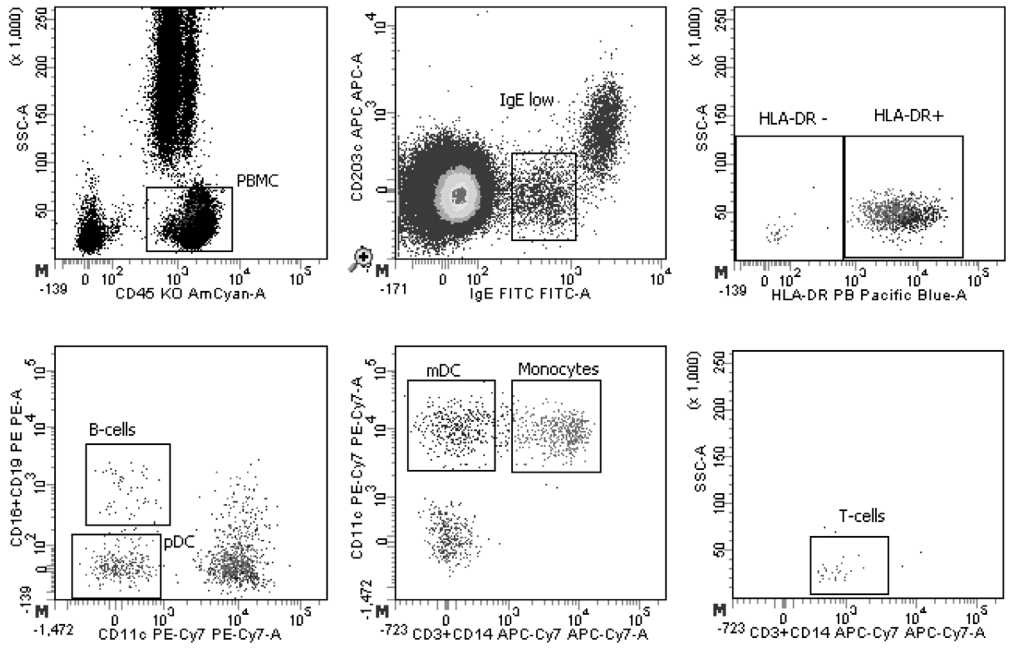


Рис. 4. Субпопуляционный состав региона IgE^{lo}

Fig. 4. Subpopulations of the IgE^{lo} region

что позволяет легко выделить регион базофилов по данному маркеру. При анализе клеточной примеси в данном регионе оказалось, что в нем могут находиться мДК, пДК и В-лимфоциты, однако их содержание значительно меньше, чем при других способах гейтирования, и составляет 1,85 (1,7–2,6) %. При использовании способа гейтирования $CD123^{+}HLA\text{-}DR^{-}$ клеточная примесь составляет 2,2 (1,6–3,2) %, в небольшом количестве присутствуют только Т-лимфоциты.

Таким образом, установлено, что наименьшее относительное число контаминирующих клеток выявляется при гейтировании с использованием IgE^{hi} и $CD123^{+}HLA\text{-}DR^{-}$, а наибольшее – при использовании $CD203c^{+}$ (рис. 3).

Также следует отметить, что не выявлено достоверных различий между способами гейтирования IgE^{hi} и $CD123^{+}HLA\text{-}DR^{-}$ ($p = 0{,}496$) в количестве «контаминирующих» регион клеток, что позволяет с равным успехом использовать оба способа.

Кроме того, исследован субпопуляционный состав региона IgE^{lo} (рис. 4). Показано, что среди IgE^{lo} клеток присутствуют преимущественно $HLA\text{-}DR^{+}$ клетки, составляющие 94,1 (90,2–98,7) % от всех IgE^{lo} клеток. Среди $HLA\text{-}DR^{+}$ клеток идентифицированы моноциты (40,1 (30,2–54,8) %), пДК (26,0 (20,4–38,2) %), мДК (24,6 (15,4–39,2) %), а также В-клетки (6,0 (3,1–9,8) %). $HLA\text{-}DR^{-}$ клетки представлены Т-лимфоцитами (4,1 (1,2–5,5) %). Полученные данные указывают на необходимость выделения только IgE^{hi} клеток в процессе гейтирования базофилов.

Заключение. Эксперименты по гейтированию базофилов с использованием 7 различных способов показали, что способы гейтирования базофилов с применением IgE^{hi} и $CD123^{hi}/HLA\text{-}DR^{neg}$ характеризуются наибольшим индексом разделения популяций. Идентификация базофилов по другим способам гейтирования ($CD3^{-}CD193^{+}/CD193^{+}$, $CD3^{-}CD294^{+}$, $CD203c^{+}$) с целью последующего проведения ТАБ мало приемлема ввиду невысокой интенсивности экспрессии маркеров.

Исследование клеточной примеси в трех основных регионах (IgE^{hi}, $CD203c^{+}$, $CD123^{+}/HLA\text{-}DR^{-}$), используемых для идентификации базофилов, показало, что наименьшее относительное число контаминирующих клеток выявляется при гейтировании с использованием маркеров IgE^{hi} и $CD123^{+}HLA\text{-}DR^{-}$, а наибольшее – с использованием маркера $CD203c^{+}$. Показано, что среди IgE^{lo} клеток присутствуют преимущественно $HLA\text{-}DR^{+}$ клетки, составляющие 94,1 (90,2–98,7) % от всех IgE^{lo} клеток. Среди $HLA\text{-}DR^{+}$ клеток идентифицированы моноциты, пДК, а также немногочисленные В-клетки.

Наибольшая стабильность экспрессии вне зависимости от состояния активации базофилов наблюдается для двух молекул: IgE и CD294.

Таким образом, показано, что наиболее подходящими для идентификации базофилов являются IgE^{hi} и $CD123^{hi}/HLA\text{-}DR^{neg}$ клетки, что обусловлено высоким показателем индекса разделения популяций, низкой примесью контаминирующих клеток и стабильностью экспрессии молекул на поверхности клеток.

Список использованных источников

1. Pros and cons of clinical basophil testing (BAT) / H. J. Hoffmann [et al.] // Curr. Allergy Asthma Rep. – 2016. – Vol. 16, N 8. – P. 56–68.

2. The clinical utility of basophil activation testing in diagnosis and monitoring of allergic disease / H. J. Hoffmann [et al.] // Allergy. – 2015. – Vol. 70 – P. 1393–1405.

3. Macglashan, D. Jr. / IgE and FcεRI regulation / D. Jr. Macglashan // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2005. – Vol. 1050. – P. 73–88.

4. Flowcytometric analysis of basophil counts in human blood and inaccuracy of hematology analyzers / S. Ducrest [et al.] // Allergy. – 2005. – Vol. 60. – P. 1446–1450.

5. Prostaglandin D2 selectively induces chemotaxis in T helper type 2 cells, eosinophils, and basophils via seven-transmembrane receptor CRTH2 / H. Hirai [et al.] // J. Exp. Med. – 2001. – Vol. 193, N 2. – P. 255–261.

6. Allergen-specific basophil suppression associated with clinical tolerance in patients with milk allergy / N. Wanich [et al.] // J. Allergy. Clin. Immunol. – 2009. – Vol. 123, N 4. – P. 789–794.

7. The monoclonal antibody 97A6 defines a novel surface antigen expressed on human basophils and their multipotent and unipotent progenitors / H. J. Bühring [et al.] // Blood. – 1999. – Vol. 94, N 7. – P. 2343–2356.

8. Sainte-Laudy, J. Analysis of membrane expression of the CD63 human basophil activation marker. Applications to allergologic diagnosis / J. Sainte-Laudy, C. Vallon, J. C. Guérin // Allerg. Immunol. (Paris). – 1994. – Vol. 26, N 6. – P. 211–214.

9. Diagnostic tests based on human basophils: more potentials and perspectives than pitfalls. II. technical issues / A. L. De Week [et al.] // J. Investig. Allergol. Clin. Immunol. – 2008. – Vol. 18, N 3. – P. 143–155.

10. WEASEL for flow cytometry [Electronic resource] // The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research. – Mode of access: http://www.frankbattye.com.au/Weasel/index.html. – Date of access: 19.06.2016.

11. BD FACSDiva™ Software [Electronic resource]. – Mode of access: http://www.bdbiosciences.com/instruments/software/facsdiva/index.jsp. – Date of access: 19.06.2016.

12. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва. – М., 2008. – 312 с.

13. A guide to modern statistical analysis of immunological data [Electronic resource] / B. Genser [et al.] // BMC Immunol. – 2007. – Vol. 8, N 27. – Mode of access: http://www.biomedcentral.com/1471-2172/8/27. – Date of access: 19.06.2016.

14. CD203c-based basophil activation test in allergy diagnosis: Characteristics and differences to CD63 upregulation / E. M. Sturm [et al.] // Cytometry. Part B (Clin. Cytometry). – 2010. – Vol. 78B. – P. 308–318.

15. Recombinant allergens promote expression of CD203c on basophils in sensitized individuals / A. W Hauswirth [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2002. – Vol. 110, N 1. – P. 102–109.

16. Macglashan, D. Jr. Expression of CD203c and CD63 in human basophils: relationship to differential regulation of piecemeal and anaphylactic degranulation processes individuals / D. Jr. Macglashan // Clin. Exp. Allergy. – 2010. – Vol. 40, N 9. – P. 1365–1377.

17. Bühring, H. J. The basophil-specific ectoenzyme E-NPP3 (CD203c) as a marker for cell activation and allergy diagnosis / H. J. Bühring, A. Streble, P. Valent // Int. Arch. Allergy Immunol. – 2004. – Vol. 133, N 4. – P. 317–329.

18. Selecting Reagents for Multicolor Flow Cytometry [Electronic resource] / H. Maecker, J. Trotter // BD Biosciences Application Note. – 2012. – Vol. 6. – Mode of access: web.mit.edu/flowcytometry/www/Becton%20Dickinson%20Multicolor_AppNote.pdf. – Date of access: 19.06.2016.

19. Comparison between antibodies from different providers: determination of median fluorescent intensities and stain indices [Electronic resource] / K. Reynvoet [et al.] // MACS&more. – 2012. – Vol. 14. – Mode of access: miltenyibiotec.com/~/media/Images/Products/Import/0010000/IM0010013.ashx. – Date of access: 19.06.2016.

20. The evolution of guidelines for the validation of flow cytometric methods / L. Du [et al.] // Int. Jnl. Lab. Hem. – 2015. – Vol. 37. – Suppl. 1. – P. 3–10.

21. Chirumbolo, S. CCR3 as a Single Selection Marker Compared to CD123/HLADR to Isolate Basophils in Flow Cytometry: Some Comments / S. Chirumbolo, R. Ortolani, A. Vella // Cytometry A. – 2011. – Vol. 79, N 2. – P. 102–106.

References

1. Hoffmann, H. J., Knol, E. F., Ferrer, M., Mayorga, L., Sabato, V., Santos, A. F., Eberlein, B., Nopp, A. and MacGlashan, D. (2016) "Pros and cons of clinical basophil testing (BAT)", *Current Allergy and Asthma Reports*, vol. 16, no. 8, pp. 56-68.

2. Hoffmann, H. J., Santos, A. F., Mayorga, C., Nopp, A., Eberlein, B., Ferrer, M., Rouzaire, P., Ebo, D. G., Sabato, V., Sanz, M. L., Pecaric-Petkovic, T., Patil, S. U., Hausmann, O. V., Shreffler, W. G., Korosec, P. and Knoll, E. F. (2015) "The clinical utility of basophil activation testing in diagnosis and monitoring of allergic disease", *Allergy*, vol. 70, pp. 1393-1405.

3. Macglashan, D. Jr. (2005) "IgE and FcεRI regulation", *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1050, pp. 73-88.

4. Ducrest, S., Meier, F., Tschopp, C., Pavlovic, R. and Dahinden, C. A. (2005) "Flowcytometric analysis of basophil counts in human blood and inaccuracy of hematology analyzers", *Allergy*, vol. 60, pp. 1446-1450.

5. Hirai, H., Tanaka K., Yoshie, O., Ogawa, K., Kenmotsu, K., Takamori, Y., Ichimasa, M., Sugamura, K., Nakamura, M., Takano, S. and Nagata, K. (2001) "Prostaglandin D2 selectively induces chemotaxis in T helper type 2 cells, eosinophils, and basophils via seven-transmembrane receptor CRTH2", *The Journal of Experimental Medicine*, vol. 193, no. 2, pp. 255-261.

6. Wanich, N., Nowak-Wegrzyn, A., Sampson, H. A. and Shreffler, W. G. (2009) "Allergen-specific basophil suppression associated with clinical tolerance in patients with milk allergy", *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2009, vol. 123, no. 4, pp. 789-794.

7. Bühring, H. J., Simmons, P. J., Pudney, M., Müller, R., Jarrossay, D., van Agthoven, A., Willheim, M., Brugger, W., Valent, P. and Kanz, L. (1999) "The monoclonal antibody 97A6 defines a novel surface antigen expressed on human basophils and their multipotent and unipotent progenitors", *Blood*, vol. 94, no. 7, pp. 2343-2356.

8. Sainte-Laudy, J., Vallon, C. and Guérin, J. C. (1994) "Analysis of membrane expression of the CD63 human basophil activation marker. Applications to allergologic diagnosis", *Allergie et immunologie* (Paris), vol. 26, no. 6, pp. 211-214 (in French).

9. De Week, A. L., Sanz, M. L., Gamboa, P. M., Aberer, W., Bienvenu, J., Blanca, M., Demoly, P., Ebo, D. G., Mayorga, L., Monneret, G. and Sainte Laudy, J. (2008) "Diagnostic tests based on human basophils: more potentials and perspectives than pitfalls. II. technical issues", *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, vol. 18, no. 3, pp. 143-155.

10. "Weasel for Display and Analysis of Flow Cytometry Data. The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research". Available at: http://www.frankbattye.com.au/Weasel/index.html, (Accessed 19 June 2016).

11. "BD FACSDiva™ Software" Available at: http://www.bdbiosciences.com/us/instruments/research/software/flow-cytometry-acquisition/bd-facsdiva-software/m/111112/overview.jsp, (Accessed 19 June 2016)

12. Rebrova, O. U. (2008) *Statisticheskii analiz medicinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm Statistica* [Statistical analysis of medical data. The use of Statistica software package], Moscow, RU.

13. Genser, B., Cooper, P. J, Yazdanbakhsh, M., Barreto, M. L. and Rodrigues, L. C. (2007) "A guide to modern statistical analysis of immunological data", *BMC Immunology*, 2007, vol. 8, no. 27, Available at: http://www.biomedcentral.com/1471-2172/8/27, (Accessed 19 June 2016).

14. Sturm, E. M., Kranzelbinder, B., Heinemann, A., Groselj-Strele, A., Aberer, W. and Sturm, G. J. (2010) "CD203c-based basophil activation test in allergy diagnosis: Characteristics and differences to CD63 upregulation", *Cytometry Part B (Clinical Cytometry)*, vol. 78B, pp. 308-318.

15. Hauswirth, A. W., Natter, S., Ghannadan, M., Majlesi, Y., Schernthaner, G. H., Sperr, W. R., Bührving, H. J., Valenta, R. and Valent, P. (2002) "Recombinant allergens promote expression of CD203c on basophils in sensitized individuals", *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 110, no. 1, pp. 102-109.

16. Macglashan, D. Jr. (2010) "Expression of CD203c and CD63 in human basophils: relationship to differential regulation of piecemeal and anaphylactic degranulation processes individuals", *Clinical and experimental allergy*, vol. 40, no. 9, pp. 1365-1377.

17. Bühring, H. J., Streble, A. and Valent, P. (2004) "The basophil-specific ectoenzyme E-NPP3 (CD203c) as a marker for cell activation and allergy diagnosis", *International Archives of Allergy and Immunology*, vol. 133, no. 4, pp. 317-329.

18. Maecker, H. and Trotter, J. (2012) "Selecting Reagents for Multicolor Flow Cytometry. BD Biosciences", *Application Note*, vol. 6. Available at: web.mit.edu/flowcytometry/www/Becton%20Dickinson%20Multicolor_AppNote.pdf (Accessed 19 June 2016).

19. Reynvoet, K., Vermaut, S., de Colvenaer, V. and Frings P. (2012) "Comparison between antibodies from different providers: determination of median fluorescent intensities and and stain indices", *MACS&more*, vol. 14. Available at: miltenyibiotec.com/~/media/Images/Products/Import/0010000/IM0010013.ashx (Accessed 19 June 2016).

20. Du, L., Grover, A., Ramanan, S. and Litwinv, V. (2015) "The evolution of guidelines for the validation of flow cytometric methods", *International Journal of Laboratory Hematology*, vol. 37, suppl. 1, pp. 3-10.

21. Chirumbolo S., Ortolani R. and Vella, A. (2011) "CCR3 as a Single Selection Marker Compared to CD123/HLADR to Isolate Basophils in Flow Cytometry: Some Comments", *Cytometry A*, vol. 79, no. 2, pp. 102-106.

Информация об авторах

Романова Ирина Владимировна – науч. сотрудник лаборатории иммунологии и клеточной биотехнологии. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: romanovairavlad@gmail.com

Гончаров Андрей Евгеньевич – канд. мед. наук, зав. лабораторией иммунологии и клеточной биотехнологии. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: andrei.hancharou@gmail.com

Дударева Наталья Ивановна – канд. мед. наук, зав. отделением аллергологии и профпатологии. 10-я городская клиническая больница (ул. Уборевича, 73, 220096, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lpu10gkb@rambler.ru

Для цитирования

Романова, И. В. Оптимизация алгоритма гейтирования базофилов на проточном цитометре: многоцветный анализ / И. В. Романова, А. Е. Гончаров, Н. И. Дударева // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – № 4. – С. 15–24.

Information about the authors

Ramanava Iryna U. – Researcher of the Laboratory for Immunology and Cellular Biotechnology. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus) E-mail: romanovairavlad@gmail.com

Hancharou Andrei Y. – Ph. D. (Med.), Head of the Laboratory for Immunology and Cellular Biotechnology. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: andrei.hancharou@gmail.com

Dudarava Natalia I. – Ph. D. (Med.), Head of the Department of Allergology and Occupational Pathology. 10th City Clinical Hospital (73, Uborevich Str., 220096, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lpu10gkb@rambler.ru

For citation

Ramanava I. U., Hancharou A. Y., Dudarava N. I. Optimization of basophil gating algoruthm on flow cytometry: multicolor analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series*, 2016, no. 4, pp. 15–24.

ISSN 1814-6023 (print)
УДК 547.327:547.295.92:612.884

Поступила в редакцию 04.08.2016
Received 04.08.2016

Т. Б. Мелик-Касумов[1], Т. О. Павлють[1], И. П. Жаворонок[1], О. А. Антипова[1], Е. И. Пехтерева[1], А. И. Василькевич[2], М. А. Кисель[2], А. Ю. Молчанова[1]

[1]Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь
[2]Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ОЦЕНКА АНТИНОЦИЦЕПТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ АМИДОВ ПАЛЬМИТИНОВОЙ КИСЛОТЫ

В экспериментах на крысах с использованием поведенческих тестов исследовано антиноцицептивное действие некоторых амидов пальмитиновой кислоты. Установлено, что однократная инъекция N-пальмитоилглицина, N-пальмитоилсеринола и N-пальмитоил-5-аминолевулиновой кислоты в дозе 2,5 мкмоль/кг в разной степени увеличивает болевой порог при предъявлении механического или термического болевого стимула. Указанные амиды могут, таким образом, играть важную роль в болевой чувствительности, в частности, за счет участия в процессах липидной сигнализации.

Ключевые слова: N-пальмитоилглицин, N-пальмитоил-β-аланин, N-пальмитоилсеринол, N-пальмитоилсерин, N-пальмитоил-5-аминолевулиновая кислота, болевая чувствительность.

T. B. Melik-Kasumov[1], T. O. Pavlut[1], I. P. Zhavoronok[1], O. A. Antipova[1], E. I. Pehtereva[1], A. I. Vasilkevich[2], M. A. Kisel[2], A. Yu. Molchanova[1]

[1]Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
[2]Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

ASSESSMENT OF ANTINOCICEPTIVE EFFECTS OF PALMITIC ACID AMIDES

The effect of some amides of palmitic acid on the pain sensitivity was studied on rats using different tests of the pain response. Single injections (2.5 μmol/kg) of N-palmitoylglycine, N-palmitoylserinol, and N-palmitoyl-5-aminolevulinic acid were found to decrease the pain threshold in varying degrees both during thermal and mechanical stimuli submission. The data suggest that the amides mentioned above can take an important part in pain sensation presumable through the lipid signaling.

Keywords: N-palmitoylglycine, N-palmitoyl-β-alanine, N-palmitoylserinol, N-palmitoylserine, N-palmitoyl-5-aminolevulinic acid, pain sensitivity.

Введение. Липидные молекулы широко распространены в организме животных и человека. Большинство таких молекул может выполнять одновременно несколько функций: являться структурными компонентами клеток (мембраны, жировые включения, миелиновая оболочка), участвовать в процессах энергетического обмена, а также выполнять сигнальные функции [1, 2]. Активное участие в биохимических процессах, локализация в мембранах и синтез «по требованию» делает липидные сигнальные молекулы перспективными для исследования их физиологических эффектов.

Среди основных классов эндогенных сигнальных липидов выделяют: классические эйкозаноиды (простагландины, лейкотриены, тромбоксаны), эндоканнабиноиды (2-арахидоноилглицерол, арахидоноилэтаноламин) и сфинголипиды (сфингомиелины, церамиды) [1]. Важно отметить, что пути синтеза и деградации представителей различных классов липидных молекул тесно связаны. Так, например, активация эндоканнабиноидных рецепторов первого типа (CB1) индуцирует гидролиз сфингомиелина с образованием церамидов [3]. В то же время гидролаза амидов жирных кислот (FAAH) является ферментом деградации для большинства N-ациламидов [4].

В последние годы открывается все больше эндогенных производных жирных кислот, которые нельзя отнести к перечисленным классам. Так, за последнее десятилетие было идентифицировано более 70 эндогенных липидных молекул, представляющих собой различные N-ациламиды. У некоторых из них наблюдалась высокая физиологическая активность и сигнальная функция [5]. Среди этих соединений наибольший интерес вызывают N-ациламинокислоты (N-пальмитоилглицины (PalGly), N-ацилГАМК, N-ацилсерины и др.) [6]. Отмечается, что большое количе-

ство N-ациламинокислот выделено из головного мозга и сенсорных нейронов, что указывает на их активное участие в физиологии нервной ткани [7].

Не менее перспективным для исследования являются N-ацилсеринолы – производные двухатомного аминоспирта серинола и жирных кислот. Несмотря на отсутствие в структуре молекулы N-ацилсеринолов алкильного радикала, их относят к аналогам церамидов – эндогенных липидных сигнальных молекул, участвующих в процессах клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза. Так, для N-пальмитоилсеринола (PalSerinol) показано индуцирование апоптоза в культуре клеток нейробластомы крыс [8]. В другом исследовании показано, что N-пальмитоилсеринол влияет на образование цилий в стволовых клетках и в клетках-предшественницах нервной ткани. Предполагается, что таким образом N-пальмитоилсеринол, как аналог церамидов, может влиять на развитие нервных отростков [9].

Обилие перечисленных N-ациламидов, а также недостаток информации об их физиологических эффектах затрудняет идентификацию и локализацию их рецепторов в различных тканях [5]. Современные методы молекулярной биологии позволили по последовательностям ДНК идентифицировать десятки клеточных рецепторов, лиганды которых еще не обнаружены (так называемые орфановые рецепторы, от англ. *orphan* – сирота) [10]. С другой стороны, с помощью методов липидомики выявлено большое количество N-ациламидов, обладающих различными физиологическими эффектами: модуляцией работы кальциевых каналов, увеличением синтеза NO в сенсорных нейронах [7, 11].

Таким образом, установление связи между орфановыми рецепторами и орфановыми лигандами – актуальная задача в контексте исследования липидных сигнальных молекул. Наряду с молекулярными методами важным остается подход, при котором определяются физиологические эффекты различных N-ациламидов *in vivo*. Установление этих эффектов позволит определить органы, ткани и клетки, в которых расположены рецепторы исследуемых веществ. В то же время обнаружение полезных физиологических эффектов (антиноцицептивного, противовоспалительного, антинеопластического и др.) исследуемых соединений может послужить основой для разработки новых лекарственных препаратов.

Цель настоящей работы – экспериментальная оценка и сравнение потенциальных антиноцицептивных эффектов пяти N-пальмитоиламидов: N-пальмитоилглицина, N-пальмитоил-β-аланина (Pal-β-Ala), N-пальмитоилсеринола, N-пальмитоилсерина (PalSer), N-пальмитоил-5-аминолевулиновой кислоты (PalLev).

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на 48 крысах-самцах линии Вистар массой 210–250 г. Животных содержали в виварии Института физиологии НАН Беларуси в соответствии с установленными нормами (Постановление Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь № 36 от 21 мая 2010 г. «Ветеринарно-санитарные правила по приему, уходу и вскрытию подопытных животных в виварии научно-исследовательских институтов, станциях, лабораториях, учебных заведениях, а также в питомниках»). Крысы находились на одинаковом стандартном рационе при свободном доступе к воде и пище. Световой режим в условиях вивария обеспечивали автоматической сменой освещения «день/ночь» каждые 12 ч. Температура воздуха составляла 19–25 °С, относительная влажность – 50–70 %. Все манипуляции с животными осуществляли с соблюдением «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страссбург, Франция, 1986). Все серии экспериментов проводили в утренние часы – между 9.00 и 11.00.

Крыс для эксперимента отбирали в тесте «Открытое поле», который позволяет определить реакцию животных на новую обстановку, оценить степень их двигательной активности и эмоциональной лабильности. «Открытое поле» представляло собой круглую площадку диаметром 120 см с бортами высотой 80 см. Поле площадки было расчерчено на сектора (12 периферических, 6 центральных и круг в центре). Каждое животное помещали в центр поля, после чего в течение 3 мин регистрировали его свободное поведение. Фиксировали количество пересеченных секторов, стоек на задних лапах, актов груминга, дефекации и уринации, а также время, проведенное в центре круга. Животных, имевших по результатам теста выраженные поведенческие отличия, из дальнейших исследований исключали.

Болевую чувствительность животных оценивали с помощью тестов Рандалла–Селитто, Hot plate («Горячая пластинка»), Tail flick («Отдергивание хвоста»). С помощью теста Рандалла–Селитто фиксировали (в граммах) давление вершины пластикового конуса на стопу экспериментального животного, при котором отмечалась специфическая болевая реакция (отдергивание лапы или вокализация) [12]. С помощью теста Hot plate измеряли латентный период ноцицептивной реакции (ЛПНР, с) – время с момента помещения животного на горячую пластинку (50 °С) до осуществления ноцицептивной реакции (облизывание задней лапы, вокализация, выпрыгивание из камеры) [13]. С помощью теста Tail flick оценивали ЛПНР при тепловом воздействии светового пучка на кожу хвоста с момента включения лампы до момента отдергивания хвоста [14]. Тесты болевой чувствительности проводили у животных трижды с перерывом в 5 мин и последующим усреднением индивидуальных показателей. В тесте Рандалла–Селлито показатели для левой и правой лап объединяли и усредняли [12].

В исследовании использовали 5 экспериментальных групп животных (по 8 особей в каждой). В каждой группе болевую чувствительность регистрировали до и через 60 мин после внутрибрюшинного введения соответствующего амида пальмитиновой кислоты. Для каждой из экспериментальных групп использовали один из следующих амидов: N-пальмитоилглицин (PalGly), N-пальмитоил-β-аланин (Pal-β-Ala), N-пальмитоилсеринол (PalSerinol), N-пальмитоилсерин (PalSer), N-пальмитоил-5-аминолевулиновую кислоту (PalLev). Соединения были синтезированы в лаборатории химии липидов ИБОХ НАН Беларуси.

Исследуемые вещества для последующей внутрибрюшинной инъекции растворяли в смеси растворителей (по объему): диметилсульфоксид (ДМСО) – 3 %, полисорбат-80 – 10, вода для инъекций – 87 %. Конечная концентрация амидов пальмитиновой кислоты составляла 2,5 мМ, доза – 2,5 мкмоль/кг. Животным группы контроля (n = 8) вводили смесь растворителей в соответствующем объеме – 1 мл/кг.

Анализ данных выполняли с помощью программы Microsoft Excel, данные представляли в виде среднего арифметического значения и его стандартной ошибки (M ± m). Проверку гипотезы о нормальном распределении количественных показателей осуществляли с помощью программы Origin 7.0 по критерию Шапиро–Уилка. Результаты проверки показали, что для всех анализируемых выборок характерно нормальное распределение ($p > 0{,}05$). Это позволяло оценивать значимость наблюдаемых отличий с помощью парного теста Стьюдента. Статистически значимыми считали данные при $p < 0{,}05$.

Результаты и их обсуждение. Предварительный тест «Открытое поле» не выявил среди экспериментальных животных особей с существенными отличиями в свободном поведении: все крысы проявляли умеренную двигательную активность, исследовали новое пространство, в редких случаях демонстрируя тревожное поведение (дефекация, груминг).

Применение теста Hot plate для оценки антиноцицептивного действия исследуемых амидов пальмитиновой кислоты оказалось наименее информативным. Несмотря на общую тенденцию к увеличению ЛПНР в опытных группах (рис. 1), наблюдаемые отличия до и после введения субстанций во всех случаях оказались недостоверными ($p > 0{,}05$).

В другом тесте, оценивающем ЛПНР в ответ на предоставление термического стимула (Tail flick), общая тенденция к увеличению анализируемого показателя оказалась достоверной в случае инъекции N-пальмитоилсеринола и N-паль-

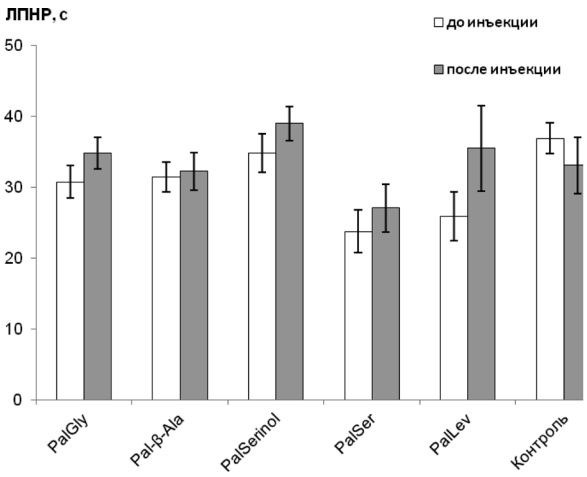


Рис. 1. Изменение латентного периода ноцицептивной реакции (ЛПНР) в тесте Hot plate до и через 60 мин после инъекции различных амидов пальмитиновой кислоты

Fig. 1. Change in the latent period of the nociceptive reaction in the Hot-Plate test before and in 60 min after injections of different amides of palmitic acid

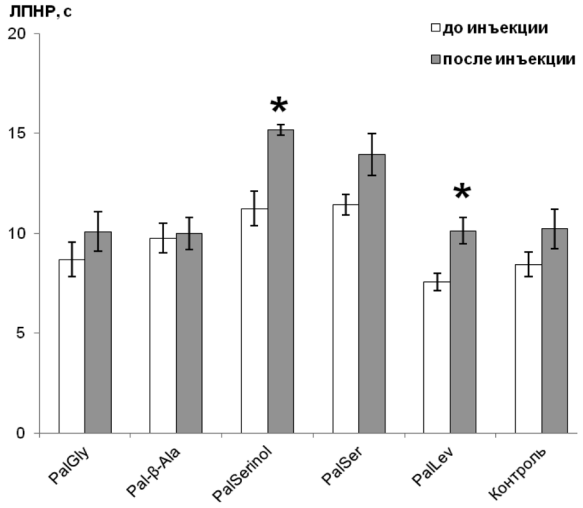


Рис. 2. Изменение латентного периода ноцицептивной реакции (ЛПНР) в тесте Tail flick до и через 60 мин после инъекции различных амидов пальмитиновой кислоты. * – $p < 0,05$ по отношению к соответствующему столбцу «до инъекции»

Fig. 2. Change in the latent period of the nociceptive reaction in the Tail-Flick test before (white column) and in 60 min after (gray column) injections of different amides of palmitic acid. * – $p < 0.05$ according to the corresponding column "before injection"

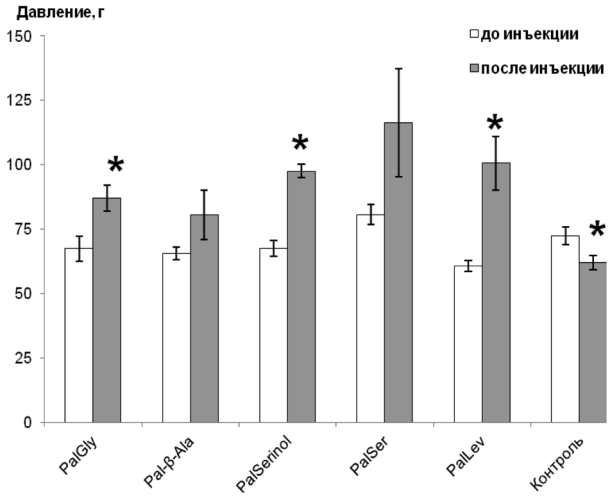


Рис. 3. Изменение болевого порога в тесте Рандалла–Селлито до и через 60 мин после инъекции различных амидов пальмитиновой кислоты. * – $p < 0,05$ по отношению к соответствующему столбцу «до инъекции»

Fig. 3. Change in the latent period of the nociceptive reaction in the Randall–Selitto test before (white column) and in 60 min after (gray column) injections of different amides of palmitic acid. * – $p < 0.05$ according to the corresponding column "before injection"

митоил-5-аминолевулиновой кислоты (рис. 2). После инъекции N-пальмитоилсеринола ЛПНР вырос на 35 % ($p = 0,003$), а после инъекции N-пальмитоил-5-аминолевулиновой кислоты – на 34 % ($p = 0,002$).

Наблюдаемые отличия в реакциях на различные тесты (рис. 1, 2) можно объяснить особенностями воздействия температурного стимула в обоих случаях. В тесте Hot plate крыса свободно перемещалась по горячей пластинке, в то время как в тесте Tail flick животное было иммобилизировано в специальном пенале-рестрейнере, пока световой пучок нагревал кожу основания хвоста до порогового значения [13, 14]. Таким образом, вариабельность ЛПНР в первом случае могла быть более существенной.

Изменения болевого порога в ответ на предоставление механического стимула после инъекции различных амидов пальмитиновой кислоты оказались более показательными (рис. 3). В тесте Рандалла–Селитто также отмечали тенденцию к увеличению болевого порога во всех опытных группах. Достоверные изменения этого показателя фиксировали для N-пальмитоилглицина (на 29,2 %; $p = 0,0006$), N-пальмитоилсеринола (на 44,5 %; $p = 0,0002$), N-пальмитоил-5-аминолевулиновой кислоты (на 65,7 %; $p = 0,0066$).

Следует отметить, что по результатам теста Рандалла–Селитто наблюдалось также изменение болевого порога в контрольной группе. Через 1 ч после внутрибрюшинной инъекции смеси растворителей у крыс фиксировали небольшое, но достоверное увеличение болевой чувствительности (на 14,3 %; $p = 0,028$). Возможно, подобный эффект объясняется наличием в смеси растворителей ДМСО: в литературе отмечена способность диметилсульфоксида оказывать как анальгетический, так и сенсибилизирующий эффект [15].

Заключение. Проведенные исследования указывают на существенный антиноцицептивный эффект N-пальмитоилглицина, N-пальмитоил-5-аминолевулиновой кислоты и N-пальмитоилсеринола. Данные амиды пальмитиновой кислоты в достаточно низкой дозе (2,5 мкмоль/кг) существенно повышают болевой порог и латентный период ноцицептивной реакции. Полученные результаты свидетельствуют о важной роли амидов пальмитиновой кислоты в регуляции болевой чувствительности в здоровом организме. Исходя из имеющихся в литературе сведений, роль

указанных амидов в процессах ноцицепции может раскрываться через так называемую систему липидной сигнализации. Это предположение обосновывается структурным сходством амидов пальмитиновой кислоты с компонентами эндоканнабиноидной системы (например, этаноламидом арахидоновой кислоты, или AEA), которая принимает активное участие в формировании так называемой антиноцицептивной системы организма. Стоит помнить и об активном участии дериватов пальмитиновой кислоты, как и других сигнальных липидов, в процессах метаболизма, а также о наличии общего для них фермента деградации – гидролазы амидов жирных кислот (FAAH) [1, 4].

Указанные соединения, возможно, обладают высоким потенциалом при использовании в качестве анальгетиков, поэтому в дальнейшем необходимо подробно исследовать их физиологические эффекты.

Список использованных источников

1. Chiurchiu, V. Bioactive lipids as modulators of immunity, inflammation and emotions / V. Chiurchiu, M. Maccarrone // Curr. Opinion in Pharmacol. – 2016. – Vol. 29. – P. 54–62.

2. Hannun, Y. A. Principles of bioactive lipid signalling: lessons from Sphingolipids / Y. A. Hannun, L. M. Obeid // Nature Rev. Mol. Cell Biol. – 2008. – Vol. 9 (2). – P. 139–150.

3. Cannabinoids and ceramide: two lipids acting hand-by-hand / G. Velasco [et al.] // Life Sci. – 2005. – Vol. 77. – P. 1723–1731.

4. Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides / B. F. Cravatt [et al.] // Nature. – 1996. – Vol. 384 (6604). – P. 83–87.

5. Bradshaw, H. B. Orphan endogenous lipids and orphan GPCRs: a good match / H. B. Bradshaw, S. H. Lee, D. McHugh // Prostaglandins Other Lipid Mediat. – 2009. – Vol. 89 (3–4). – P. 131–134.

6. Connor, M. N-Acyl amino acids and N-acyl neurotransmitter conjugates: neuromodulators and probes for new drug targets / M. Connor, C. W. Vaughan, R. J. Vandenberg // Br. J. of Pharmacol. – 2010. – Vol. 160. – P. 1857–1871.

7. Identification of endogenous acyl amino acids based on a targeted lipidomics approach / D. Tan [et al.] // J. Lipid Res. – 2010. – Vol. 51. – P. 112–119.

8. Bieberich, E. N-Acylatedserinol is a novel ceramide mimic inducing apoptosis in neuroblastoma cells / E. Bieberich, T. Kawaguchi, R. K. Yu // J. of Biol. Chem. – 2000. – Vol. 275, N 1. – P. 177–181.

9. Primary cilia in stem cells and neural progenitors are regulated by neutral sphingomyelinase 2 and ceramide / Q. He [et al.] // Mol. Biol. of Cell. – 2014. – Vol. 25. – P. 1715–1729.

10. Orphan GPCRs and their ligands / O. Civelli [et al.] // Pharmacol. Ther. – 2006. – Vol. 110 (3). – P. 525–532.

11. N-Palmitoylglycine, a novel endogenous lipid that acts as a modulator of calcium influx and nitric oxide production in sensory neurons / N. Rimmerman [et al.] // Mol. Pharmacol. – 2008. – Vol. 74. – P. 213–224.

12. Randall-Selitto Test: a New Approach for the Detection of Neuropathic Pain after Spinal Cord Injury / E. Santos-Nogueira [et al.] // J. Neurotrauma. – 2012. – Vol. 29 (5). – P. 898–904.

13. Unilateral hot plate test: a simple and sensitive method for detecting central and peripheral hyperalgesia in mice / L. Menendez [et al.] // J. of Neurosci. Meth. – 2002. – Vol. 113, iss. 1. – P. 91–97.

14. D'Amour, F. E. A method for determining loss of pain sensation / F. E. D'Amour, D. L. Smith // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1941. – Vol. 72 (1). – P. 74–78.

15. Haigler, H. J. Comparison of the analgesic effects of dimethylsulfoxide and morphine / H. J. Haigler, D. D. Spring // Ann. of the N. Y. Acad. of Sci. – 1983. – Vol. 411. – P. 19–27.

References

1. Chiurchiu, V. and Maccarrone, M. (2016) "Bioactive lipids as modulators of immunity, inflammation and emotions", *Current Opinion in Pharmacology*, vol. 30, pp. 54-62.

2. Hannun, Y. A. and Obeid, L. M. (2008) "Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids", *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 9 (2), pp. 139-150.

3. Velasco, G., Galve-Roperh, I., Sanchez, C., Blazquez, C., Haro, A. and Guzman, M. (2005) "Cannabinoids and ceramide: two lipids acting hand-by-hand", *Life Sciences*, vol. 77, pp. 1723-1731.

4. Cravatt, B. F., Giang, D. K., Mayfield, S. P., Boger, D. L., Lerner, R. A. and Gilula, N. B. (1996) "Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides", *Nature,* 1996, vol. 384 (6604), pp. 83-87.

5. Bradshaw, H. B., Lee, S. H. and McHugh, D. (2009) "Orphan endogenous lipids and orphan GPCRs: a good match", *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, vol. 89 (3–4), pp. 131-134.

6. Connor, M., Vaughan, C. W. and Vandenberg, R. J. (2010) "N-Acyl amino acids and N-acyl neurotransmitter conjugates: neuromodulators and probes for new drug targets", *British Journal of Pharmacology,* vol. 160 (8), pp. 1857-1871.

7. Tan, B., O'Dell, D. K., Yu, Y. W., Monn, M. F., Hughes, H. V., Burstein, S. and Walker, J. M. (2010) "Identification of endogenous acyl amino acids based on a targeted lipidomics approach", *Journal of Lipid Research*, vol. 51 (1), pp. 112-119.

8. Bieberich, E., Kawaguchi, T. and Yu, R. K. (2000) "N-Acylatedserinol is a novel ceramide mimic inducing apoptosis in neuroblastoma cells", *Journal of Biological Chemistry,* vol. 275 (1), pp. 177-181.

9. He, Q., Wang, G., Wakade, S., Dasgupta, S., Dinkins, M., Kong, J. N., Spassieva, S. D. and Bieberich, E. (2014) "Primary cilia in stem cells and neural progenitors are regulated by neutral sphingomyelinase 2 and ceramide", *Molecular Biology of the Cell*, vol. 25 (11), pp. 1715-1729.

10. Civelli, O., Saito, Y., Wang, Z., Nothacker, H. P. and Reinscheid, R. K. (2006) "Orphan GPCRs and their lgands", *Pharmacology and Therapeutics* , vol. 110 (3), pp. 525-532.

11. Rimmerman, N., Bradshaw, H. B., Hughes, H. V., Chen, J. S., Hu, S. S., McHugh, D., Vefring, E., Jahnsen, J. A., Thompson, E. L., Masuda, K., Cravatt, B. F., Burstein, S., Vasko, M. R., Prieto, A. L., O'Dell, D K. and Walker, J. M. (2008) "N-palmitoylglycine, a novel endogenous lipid that acts as a modulator of calcium influx and nitric oxide production in sensory neurons", *Molecular pharmacology*, vol. 74 (1), pp. 213-224.

12. Santos-Nogueira, E., Redondo Castro, E., Mancuso, R. and Navarro, X. (2012) "Randall-Selitto Test: A New Approach for the Detection of Neuropathic Pain after Spinal Cord Injury", *Journal of Neurotrauma,* vol. 29 (5), pp. 898-904.

13. Menéndez, L., Lastra, A., Hidalgo, A. and Baamonde, A. (2002) "Unilateral hot plate test: a simple and sensitive method for detecting central and peripheral hyperalgesia in mice", *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 113 (1), pp. 91-97.

14. D'Amour, F. E. and Smith, D. L. (1941) "A method for determining loss of pain sensation", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 72 (1), pp. 74-78.

15. Haigler, H. J. and Spring, D. D. (1983) "Comparison of the analgesic effects of dimethylsulfoxide and morphine", *Annals of the New York Academy of Sciences,* 1983, vol. 411, pp. 19-27.

Информация об авторах

Мелик-Касумов Тигран Беглярович – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник лаборатории модуляции функций организма. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tigranbmk@gmail.com

Павлють Татьяна Олеговна – науч. сотрудник лаборатории модуляции функций организма. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tanja 281286@mail.ru

Жаворонок Ирина Петровна – канд. биол. наук, науч. сотрудник лаборатории модуляции функций организма. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: iri8308@yandex.ru

Антипова Ольга Александровна – мл. науч. сотрудник лаборатории модуляции функций организма. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: mayuha@ yandex.ru

Пехтерева Елена Ивановна – мл. науч. сотрудник лаборатории модуляции функций организма. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: eleivatar@list.ru

Василькевич Алексей Игоревич – науч. сотрудник лаборатории химии липидов. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vasilkevich@ iboch.bas-net.by

Information about the authors

Melik-Kasumov Tigran Begljarovich – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher of the laboratory of body function modulation. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tigranbmk@gmail.com

Pavlut Tatjana Olegovna – Researcher of the laboratory of body function modulation. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tanja281286@mail.ru

Zhavoronok Irina Petrovna – Ph. D. (Biol.), Researcher of the laboratory of body function modulation. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: iri8308@yandex.ru

Antipova Olga Aleksandrovna – Junior Researcher of the laboratory of body function modulation. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mayuha@yandex.ru

Pehtereva Elena Ivanovna – Junior Researcher of the laboratory of body function modulation. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: eleivatar@list.ru

Vasilkevich Aleksej Igorevich – Researcher of the laboratory of lipid chemistry. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Akademika Kuprevicha Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vasilkevich@ iboch.bas-net.by

Кисель Михаил Александрович – д-р хим. наук, заведующий лабораторией химии липидов. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kisel@iboch.bas-net.by

Молчанова Алла Юрьевна – канд. биол. наук, заведующая лабораторией модуляции функций организма. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: alla@fizio.bas-net.by

Для цитирования

Оценка антиноцицептивного действия амидов пальмитиновой кислоты / Т. Б. Мелик-Касумов [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – № 4. – С. 25–31.

Kisel Mihail Aleksandrovich – D. Sc. (Chem.), Head of the laboratory of lipid chemistry. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Akademika Kuprevicha Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kisel@iboch.bas-net.by

Molchanova Alla Yur'evna – Ph. D., Head of the laboratory of body function modulation. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alla@fizio.bas-net.by

For citation

Melik-Kasumov T. B., Pavlut T. O., Zhavoronok I. P., Antipova O. A., Pehtereva E. I., Vasilkevich A. I., Kisel M. A., Molchanova A.Yu. Assessment of antinociceptive effects of palmitic acid amides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series*, 2016, no. 4, pp. 25–31.

ISSN 1814-6023 (print)
УДК 616.62-007.46-089.8-053.2

Поступила в редакцию 03.10.2016
Received 03.10.2016

Ю. Г. Дегтярев[1], Я. Ф. Абу-Варда[2], О. Ю. Фомин[3]

[1] Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
[2]Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь
[3]1-я городская клиническая больница г. Минска, Минск, Республика Беларусь

СИСТЕМА ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ ДЕТЯМ С ВРОЖДЕННОЙ АНОРЕКТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ В БЕЛАРУСИ

Благодаря функционирующей многоуровневой системе оказания медицинской помощи детям Беларусь относится к странам с низким уровнем младенческой смертности (2015 г. – 3,0 ‰). В работе проведен анализ оказания медицинской помощи детям с врожденной аноректальной патологией в Республике Беларусь, в том числе хирургической помощи детям с врожденными пороками развития аноректальной области (ВПР АРО), определены принципы и возможности ее дальнейшей оптимизации, позволяющие добиться максимально возможного результата при минимальных материальных издержках.

Лечение детей в специализированном учреждении, стандартизация подходов для определения показаний к операции, операционной тактики, послеоперационного ведения позволяет оптимизировать результаты лечения пациентов с врожденной аноректальной аномалией. Применение разработанной системы диагностики и лечения пациентов с ВПР АРО обеспечило достоверное уменьшение в отдаленном периоде летальности с 20 % (1980 г.), 7 % (1990 г.) до 1,8 % (2014 г.) ($p < 0{,}001$). Сокращена длительность пребывания пацментов в стационаре: если раньше ребенок находился в отделении интенсивной терапии и реанимации 7 ± 3,4 сут, а в Детском хирургическом центре – 22,2 ± 3,9 сут, то в 2014 г. – 4,8 ± 1,2 и 14,7 ± 3,4 сут соответственно ($\chi^2 = 1{,}256$, $p = 0{,}429$ и $\chi^2 = 1{,}1694$, $p = 0{,}919$). Уменьшилось количество повторных операций (с 20 % в 1980 г. до 5 % в 2014 г.).

Ключевые слова: врожденные пороки развития, аноректальные аномалии, организация лечения.

Ju. G. Degtyarev[1], J. F. Abu Varda[2], O. J. Fomin[3]

[1]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
[2]Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus
[3]1st City Hospital, Minsk, Republic of Belarus

SYSTEM CARE FOR CHILDREN WITH CONGENITAL ANORECTAL PATHOLOGY IN BELARUS

Belarus is among the countries with a low infant mortality rate (2015 – 3 ppm). This is achieved thanks to a functioning multi-level system of care for children. As an example, the provision of medical aid to children with congenital anorectal disorders in the Republic of Belarus, including surgical care to children with congenital anorectal disorders, is analyzed, and the principles, which will ensure the best possible results with minimal material costs, are defined.

The treatment of children in special institutions and the standardization of the approaches to determine the indications for surgery, operating tactics, and postoperative management allow one to optimize the results of treatment of patients with congenital anorectal anomaly. The application of the developed system of diagnostics and the treatment of patients with congenital malformations of ARC has provided a significant decrease in the long-term mortality from 20 % (1980), 7 % (1990) to 1.8 % (2014) ($p < 0.001$). A reduced length of hospital stay is: if earlier a child was in intensive care and resuscitation 7 ± 3.4 days, and DHC 22.2 ± 3.9 days, then in 2014 – 4.8 ± 1.2 and 14.7 ± 3.4 days, respectively ($\chi^2 = 1.256$, $p = 0.429$ and $\chi^2 = 1.1694$, $p = 0.919$). The number of re-operations is reduced from 20 % (1980) to 5 % (2014).

Keywords: birth defects, anorectal anomaly, organization of treatment.

Введение. Врожденные аномалии развития в настоящее время составляют большой процент заболеваемости, инвалидизации и смертности, являясь тяжелым бременем как для отдельной семьи, так и для общества в целом. Результаты лечения детей с врожденными пороками развития (ВПР) отражают объективную картину системы здравоохранения в стране. В Республике Беларусь показатель младенческой смертности на протяжении последнего времени уменьшился с 12,2 ‰ в 1998 г. до 3,0 ‰ в 2015 г. Среди причин младенческой смертности первое место занимают «отдельные состояния, возникшие в перинатальный период» – 41 %; врожденные анома-

© Дегтярев Ю. Г., Абу-Варда Я. Ф., Фомин О. Ю., 2016

лии – 22,5; несчастные случаи, травмы, отравления – 10 % [1]. В Республике Беларусь с населением около 9,5 млн человек ежегодно рождается около 100 тыс. детей (в 2015 г. – 119,5 тыс.). Число детей с ВПР аноректальной области (АРО) в Беларуси составляет 20 ± 2,3 в год. В силу экономической целесообразности и для получения хороших результатов почти все пациенты с данной патологией сконцентрированы в одном учреждении – Детском хирургическом центре г. Минска (ДХЦ), где накапливается опыт и совершенствуется квалификация персонала в лечении данной патологии. В последнее время оказывается экспорт медицинских услуг, наблюдаются и оперируются дети из Российской Федерации, Грузии и Украины.

Представляет интерес опыт лечения данной патологии в предшествующие годы. В 1970 г. (год открытия центра) было пролечено 10 пациентов с атрезией прямой кишки. Операции выполнены 8 пациентам, из которых 2 умерли (летальность – 20 %, послеоперационная летальность – 25 %). В этот период прослеживалась тенденция к выполнению одноэтапных радикальных операций: из 8 операций 4 выполнены брюшно-промежностным доступом, 4 – промежностным. В 1978 г. с атрезией прямой кишки пролечены 15 пациентов, из которых оперированы 11 (выполнено 20 операций). Из оперированных пациентов 3 умерли (летальность – 20 %, послеоперационная летальность – 27 %). В 1981 г. с атрезией прямой кишки из 15 пациентов оперированы 11. В послеоперационном периоде умерло 4 ребенка (летальность – 27 %, послеоперационная летальность – 36 %). Осложнениями были тазовый фибринозно-гнойный перитонит, спаечная непроходимость, нагноения послеоперационных ран.

С середины 1980-х годов в клинике стали отдавать предпочтение выполнению многоэтапных операций, что привело к резкому сокращению летальности и послеоперационных осложнений. В 1985 г. из 33 детей с атрезией прямой кишки оперирован 21 ребенок, причем 19 – многоэтапным способом. Умерло в послеоперационном периоде 2 пациента (летальность – 6 %, послеоперационная летальность – 10 %). За период с 1970 по 1985 г. основные послеоперационные осложнения включали раневую инфекцию (23 случая), несостоятельность анастомоза (27 случаев), непроходимость кишечника (19 случаев) и кровотечения (8 случаев).

Для снижения летальности и инвалидности новорожденных с пороками аноректальной области были выделены следующие направления: совершенствование хирургического этапа лечения (использование специального хирургического инструментария, современного шовного материала, минимальная травматизация тканей), анестезиологическое обеспечение (использование современных наркозных аппаратов, возможность постоянного мониторинга параметров гомеостаза, поддержание температурного режима) и послеоперационное выхаживание (создание палат интенсивной терапии для новорожденных, специализирующийся на этом врачебный и сестринский персонал). Большое значение сыграло также совершенствование организационных принципов оказания специализированной медицинской помощи при лечении данного контингента пациентов. В основу республиканской системы оказания медицинской помощи детям с ВПР положен принцип: если невозможно оказать квалифицированную помощь пациентам, следует организовать их транспортировку в больницу, имеющую необходимое оснащение и персонал соответствующей квалификации.

С 2005 г. летальность при врожденных аноректальных пороках у доношенных детей практически сведена к минимуму, резко снизилась летальность у недоношенных и маловесных детей с массой тела менее 1500 г, а также у детей с сопутствующей врожденной патологией.

Цель исследования – провести анализ оказания хирургической помощи детям с врожденными пороками развития аноректальной области и определить возможности ее дальнейшей оптимизации в Республике Беларусь.

Объекты и методы исследования. Объектами для исследования являлись пациенты с врожденной патологией аноректальной области, на которых направлены действия врача при оказании медицинской помощи, проходившие лечение в Центре детской хирургии 1-й городской клинической больницы (ГКБ) г. Минска и УЗ «2-я городская клиническая больница», отделениях детской хирургии областных центров Республики Беларусь в 1970–2014 гг. Анализу были подвергнуты:

документы, отражающие суть и принципы оказания медицинской помощи: медицинская карта стационарного пациента, годовые отчеты детского хирургического центра 1-й ГКБ, годовые отчеты отделений, годовые отчеты по детской хирургии главного внештатного детского хирурга Республики Беларусь, анкеты пациентов, результаты непосредственного общения с пациентами;

процесс оказания медицинской помощи, его организация и осуществление в рамках законодательства Республики Беларусь, отраженные в нормативно-правовых документах, определяющие результаты лечения этой группы пациентов.

Для определения ближайших и отдаленных результатов диагностики и лечения пациентов с врожденными пороками аноректальной области применялись следующие методы исследования: клинические, рентгенографические, инструментальные, лабораторные.

Результаты и их обсуждение. Изучена распространенность ВПР АРО среди детей, родившихся в Республике Беларусь за период с 1979 по 2014 г. Всего за период с 1979 по 2014 г. в Республике Беларусь родилось живыми 4 151 249 детей [1]. Из них у 806 выявлены врожденные аноректальные аномалии, данные о которых внесены в Белорусский национальный регистр ВПР [2] (создан в 1979 г. как государственная программа учета рождения детей с аномалиями развития). Учету подлежали врожденные пороки, установленные у новорожденных до выписки из роддома, у мертворожденных весом свыше 500 г (срок гестации начиная с 22 недель), а также у абортусов любого срока беременности после ее прерывания по генетическим показаниям. Полнота учета и своевременность информации контролируется региональными медико-генетическими центрами.

Популяционную частоту аноректальных аномалий рассчитывали как отношение числа живорожденных детей с пороками развития к общему числу живорожденных (на 100 000 рождений). Расчет базовой частоты ВПР производили за анализируемый период, используя формулы Европейского бюро ВПР (EUROCAT). Соответственно, частота порока составила 4151249:806 = 1 случай на 5150 живорожденных, а общая заболеваемость ВПР АРО в исследуемый период – 19,4 случая на 100 тыс. населения.

Из этого количества пациентов в ДХЦ с 1970 по 2014 г. с различными видами аноректальных пороков находилось на лечении 525 (100 %) детей, из них мальчиков – 294 (56 %), девочек – 231 (44 %). Проведен анализ диагностики, обследования и лечения пациентов этой группы. Ретроспективно стремились классифицировать все пороки в соответствии с Международной Krickenbeck классификацией [3]. У мальчиков были диагностированы: аноректальная агенезия без фистулы – у 31 пациента, промежностный (кожный) свищ – у 136, аноректальная агенезия с ректоуретральным свищом (ректопростатическим и ректобульбарным) – у 76, ректовезикальная фистула – у 14, ректальный стеноз – у 15, редкие формы – у 7 пациентов. Диагноз не удалось идентифицировать в 15 случаях. У девочек встречались: промежностная (кожная) фистула – у 104 пациенток, аноректальная агенезия без фистулы – у 7, ректовестибулярная фистула – у 84, ректальный стеноз – у 2, персистирующая клоака – у 8, редкие формы – у 6 пациенток. У 20 девочек диагноз не идентифицирован [3]. Разночтения в постановке диагноза были обусловлены первоначальным использованием нескольких классификаций (Мельбурнской, 1970; Wingspread, 1984). В соответствии с современными международными стандартами придерживаемся мнения, что Krickenbeck классификация в модификации Pena охватывает все аноректальные пороки, определяет тактику хирурга на первом этапе лечения, рациональна и проста в практическом плане. Термины «низкая», «промежуточная» и «высокая» атрезия используем в силу традиций – в научных статьях по данной проблематике, для упрощения объяснения родителям, а также врачам смежных специальностей тактики лечения и функциональных прогнозов в ближайшем и отдаленном периодах.

В связи с большим разнообразием вариантов порока и множеством предлагаемых методов лечения хирургическая коррекция аноректальных аномалий у детей является одной из самых обсуждаемых в детской хирургии. Успешное лечение врожденных аноректальных пороков зависит от многих причин, прежде всего от правильной диагностики вида аномалии и рационального проведения лечебно-организационных мероприятий.

В конце XX в., по мере появления новых технологий диагностики, профилактики и лечения, медицинская помощь с экономической точки зрения приобрела черты производства медицинских услуг. Клиническая медицина сегодня – это современная индустриальная технология, требующая научно обоснованных подходов к проведению и организации лечебного процесса. Вследствие этого в сфере здравоохранения все чаще стали использоваться терминология и понятийный аппарат производственного процесса. Понятие качества товара или услуги, в том числе медицинской, связано с их потребительскими свойствами. Международные стандарты ИСО серии 9000 и 10 000 определяют качество как совокупность характеристик объекта, относящихся к его способности удовлетворять потребности.

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) дает следующую формулировку понятия качества медицинской помощи: «…каждый пациент должен получить такой комплекс диагностической и терапевтической помощи, который привел бы к оптимальным для здоровья этого пациента результатам в соответствии с уровнем медицинской науки и такими биологическими факторами, как его возраст, заболевание, сопутствующий диагноз, реакции на выбранное лечение и др. При этом для достижения такого результата должны быть привлечены минимальные средства, риск должен быть минимальным, пациент должен получить максимальное удовлетворение от процесса оказываемой помощи, максимальными должны быть и взаимодействия пациента с системой медицинской помощи, а также полученные результаты». Согласно данной формулировке, качество медицинской помощи определяется как оценка медицинской деятельности по отношению к больному с позиций доступности медицинской помощи, ее безопасности, оптимальности, а также удовлетворенности пациента.

Нам представляется, что качество оказания медицинской помощи складывается из следующих компонентов:

1) качество структурное – компоненты его оказания (квалификация кадров, наличие и состояние оборудования, рациональность его использования);

2) качество технологии (показывает, насколько комплекс лечебно-диагностических мероприятий, оказанных конкретному пациенту, был оптимален в соответствии с современным мировым уровнем оказания помощи при данной патологии);

3) качество организации лечебного процесса, которое предусматривает рациональность использования имеющихся ресурсов: кадров, оборудования, коечного фонда.

При адекватном применении этих компонентов фактически достигнутые результаты соответствуют максимально достижимым.

Профессионализм персонала – главное условие реализации технологических процессов в медицине. Сегодня, говоря об уровне профессиональной квалификации детских хирургов, можно сказать, что он связан как с накоплением большого объема знаний в области анатомии и физиологии тазового дна, так и с совершенствованием принципов оперативного лечения данной категории пациентов.

Качество технологии. Подавляющее большинство медицинских технологий первоначально разработано и внедрено в экономически развитых странах, что определяется высоким уровнем финансирования здравоохранения в этих странах, возможностью проведения фундаментальных и прикладных научных исследований. В условиях ограниченных финансовых ресурсов для получения максимально возможного результата считаем экономически целесообразным внедрение уже разработанных, конкретных современных технологий. В хирургической практике считаем рациональным введение понятия «импорт операции», или «импорт технологии», в работу клиники. Существует два пути его осуществления:

1) приглашение в клинику высококвалифицированного специалиста, досконально владеющего методикой (технологией) для проведения неоднократных операций;

2) длительные стажировки сотрудников клиники в ведущие мировые центры, признанные лидерами в лечении изучаемой патологии.

Анализ разного рода ошибок в лечении пациентов показал, что одного профессионализма уже недостаточно для обеспечения ожидаемых результатов лечения. Для своевременного пре-

дупреждения возникновения ошибок необходима организация правильного взаимодействия между учреждениями в процессе ведения пациента с диагнозом врожденной аноректальной аномалии в пределах имеющихся условий и ресурсов. А кроме того, нужен контроль лечения, т. е. выявление и устранение отклонений в процессе лечения.

Кадровая политика. Клиники, особенно с долговременными, сильными традициями, своей историей и при отсутствии конкуренции, имеют устоявшиеся подходы к лечению определенной патологии, что определяет инертность работы учреждения. Большое значение имеет желание и возможность руководства клиники воспринимать и следовать современным тенденциям развития хирургии. Поэтому необходимым условием развития учреждения является приток молодых кадров, стремящихся следовать современным тенденциям развития хирургии.

При рациональном использовании таких компонентов, как качество структуры, качество технологии и организация, можно ожидать и высокого качества результатов лечения, что и наблюдается в настоящее время при диагностике и лечении ВПР АРО.

В настоящее время в Республике Беларусь ВПР АРО выявляются в антенатальном периоде. Пренатальная диагностика ВПР пищеварительного тракта основывается на принципах выявления факторов риска рождения детей с ВПР, использования неинвазивных методов исследования (УЗИ, скрининговых тестов крови на альфафетопротеин, хорионический гонадотропин при многоводии). Самым доступным и эффективным методом, позволяющим в период беременности установить пороки развития, является УЗИ плода. Порядок и сроки его выполнения в Республике Беларусь регламентированы Постановлением Министерства здравоохранения [4]. Цель пренатальной диагностики – выявить порок развития. Будущие родители должны быть информированы о заболевании ребенка и возможностях коррекции этого порока [5]. На основании полученного заключения по согласованию с родителями ребенка решается вопрос о продолжении беременности или ее прерывании. Белорусское законодательство разрешает при наличии верифицированного порока и желании женщины проведение аборта в поздние сроки [6]. Следует отметить, что в учреждениях 3–4 уровня процент выявления пороков значительно выше, чем в учреждениях начальных уровней оказания медицинской помощи.

Некоторые авторы отмечают высокую экономическую эффективность пренатальной диагностики, так как расходы на хирургическую коррекцию ВПР существенно (в 10–15 раз) превышают расходы на пренатальную диагностику и прерывание беременности. В условиях современной демографической ситуации в Республике Беларусь, которая характеризуется отрицательным естественным приростом (2014 г. – минус 3008 человек), проблема сохранения жизни каждого ребенка приобретает особую актуальность. Экономический эффект сохранения жизни ребенка, по результатам наших расчетов, составил 6,633 млрд руб. (определяется суммой произведенного дохода в течение трудоспособной жизни за вычетом предполагаемых социальных расходов). С учетом полученных данных становится очевидным, что прерывание беременности при наличии у плода корригируемого порока развития экономически нецелесообразно даже при достаточно высокой стоимости хирургического лечения. В настоящее время проблема не в выживании этой группы пациентов, а в необходимости получения приемлемого функционального результата. Существует возможность хирургической коррекции, которая не только устраняет анатомический дефект, но и предотвращает инвалидизацию ребенка, тем самым обеспечивая его трудоспособность в будущем.

При принятии женщиной решения о сохранении беременности для родоразрешения беременные со всей Республики Беларусь с диагностированными у плодов ВПР желудочно-кишечного тракта, требующими хирургической коррекции, госпитализируются в роддом 1-й ГКБ г. Минска, в непосредственной близости от которого расположен РНПЦ детской хирургии, где осуществляется их коррекция. Это регламентируется приказом МЗ Республики Беларусь № 776 от 13.10.2006 г. Предложенная в США идея пренатальной транспортировки беременных женщин, имеющих риск рождения детей с пороками развития (трансфер in utero), получила название «ре-

гионализация». Данный термин выражает необходимость связи всех родильных отделений региона вокруг ведущего учреждения, где сосредоточены родильное отделение и службы интенсивной терапии, неонатальной хирургии. Регионализация получила широкое распространение в США, а затем и в странах Европы. Возникает вопрос о территории региона и его численности, который в разных странах определяется территориальными и организационными особенностями. Пренатальные трансферы позволяют сократить количество транспортировок новорожденных, каждая из которых несет существенную угрозу здоровью новорожденного ребенка и обходится государству в сумму около 1000 евро [7].

Необходимым условием квалифицированной неонатальной помощи является существование службы транспортировки новорожденных в специализированные медицинские центры. Транспортировка в хирургический стационар осуществляется специализированными машинами детской скорой помощи, круглосуточно обслуживаемыми врачами реаниматологами-неонатологами. Учитывая врожденную низкую кишечную непроходимость при ВПР АРО, новорожденных относят к группе высокого риска при транспортировке. Следовательно, у этой группы пациентов при трансферте чрезвычайно актуальными являются профилактика гемодинамических дыхательных нарушений и температурного режима. Гипотермия и гипертермия – наиболее часто встречающиеся осложнения при транспортировке новорожденных. Согласно данным американской педиатрической академии, в каждом регионе должны быть выработаны правила транспортировки новорожденных с учетом расстояния, возможностей медицинского обеспечения. Необходимая межведомственная связь между учреждениями различных уровней в Республике Беларусь обеспечивается сильным административным ресурсом. Учитывая географические условия Республики Беларусь («центральное» географическое расположение г. Минска, самое дальнее расстояние до столицы 380 км), хорошее качество автомобильных дорог, а также эксклюзивность патологии – около 20 случаев в год, наличие квалифицированного, узкоспециализированного персонала, дорогостоящего оборудования, необходима концентрация этих пациентов в РНПЦ детской хирургии.

Одним из основных средств оптимизации лечебно-диагностического процесса являются клинические протоколы (стандарты) оказания медицинской помощи. В 2015 г. разработан алгоритм хирургического лечения всех нозологических форм ВПР АРО с учетом оказания конкретных видов диагностики, медицинской помощи и медицинской реабилитации. В основу разработки алгоритма положен принцип системного подхода к формированию стандартных блоков медицинской помощи на всех этапах диагностики и лечения пациента с ВПР АРО. Для каждого варианта порока определен перечень инструментальных и лабораторных исследований. Определена оптимальная последовательность действий для лечения пациента с конкретной патологией на каждом этапе лечения. Следует подчеркнуть, что речь идет не о попытке подменить врача в процессе установления диагноза и выборе способа лечения, а о регламентировании методов диагностики, лечения данной патологии в зависимости от уровня учреждения, где оказывается помощь пациенту.

Тактика в период новорожденности. Выбор тактики в неонатальном периоде определяется видом порока, определенное значение имеет и место оказания медицинской помощи. При рождении ребенка в районных центрах осуществляются консультация новорожденного детским хирургом и обязательный перевод его в отделение детской хирургии областной больницы. В условиях специализированного отделения интенсивной терапии врачом – детским хирургом (как правило, заведующим отделением) проводится диагностика уровня атрезии. При показании к выполнению колостомии она производится в областной больнице врачами – детскими хирургами, при диагностике «низкой» атрезии и решении выполнять радикальную операцию пациент переводится в РНПЦ детской хирургии, при невозможности перевода предусмотрен выезд сотрудника кафедры детской хирургии по линии санавиации и проведение операции на месте (в 2013–2014 гг. проведено 3 операции). При выполнении оперативного вмешательства берется информированное согласие родителей на выполнение предполагаемой манипуляции, подробно

объясняются методы, сроки, этапы лечения и делается прогноз [5]. Транспортировка новорожденных детей для хирургических манипуляций в Центр осуществляется специализированной машиной скорой помощи, которая обслуживается квалифицированной реанимационной бригадой неонатологов и оснащена всем необходимым для оказания помощи новорожденным непосредственно во время транспортировки. К оборудованию, используемому для неонатального транспорта, предъявляются особые технические требования. Все транспортные средства должны соответствовать Европейскому стандарту EN 1789 [7].

По мнению Pena с сотр. [8], в 98 % случаев на основании осмотра промежности можно определить вид и уровень атрезии прямой кишки, а следовательно, и хирургическую тактику. В любом случае предпочтение отдается операции заднего сагиттального доступа. Так, первичный осмотр промежности в 80 % случаев позволил установить ректо-промежностные свищи, что является индикатором «низкой» атрезии, а выделение мекония из мочевых путей указывало на «высокую» или «промежуточную» форму атрезии. При безсвищевых пороках определяли расстояние от кожи до прямой кишки при помощи УЗИ промежности и/или инвертограммы по Wangresteen (выполнена 22 пациентам).

В 96 % случаев сроки диагностики в роддомах – в течение суток, но иногда даже при безсвищевой атрезии диагноз устанавливался на 2-е–3-и сутки жизни, что говорит об отсутствии настороженности в диагностике со стороны неонатологов.

При безсвищевых формах для уточнения расстояния от кожи до дистальной части прямой кишки и брюшной полости и обнаружения сопутствующей патологии (70 % случаев), как правило, выполняется УЗИ промежности. При наличии «высоких» пороков и расстоянии от кожи до кишки более 1 см осуществляется выведение колостомы, при расстоянии менее 1 см – одномоментная проктопластика. При сомнении в определении уровня атрезии прямой кишки выполняется колостомия.

В настоящее время при диагностировании промежностной (свищевой) формы порока до 3 сут жизни выполняется, как правило, одномоментная операция: промежностная, минимальная заднесагитальная проктопластика. Если же диагностика при свищевых формах запоздала (ребенок активно кормился, выделялся не меконий, а стул новорожденного), в самом раннем периоде должен быть решен вопрос, в каком возрасте будет производиться радикальная операция. По нашему мнению, ключом к решению является определение размера наружного отверстия эктопированного анального канала. Если имеющегося отверстия недостаточно для нормального опорожнения кишки (есть признаки кишечной непроходимости), до момента радикальной операции ребенку должна быть выполнена колостомия. В тех случаях, когда наружное отверстие эктопированного анального канала позволяет беспрепятственное опорожнение кишки, для сокращения времени носительства ребенком стомы колостомия может быть выполнена позже. Проктопластика выполняется в возрасте 5–10 мес. В перспективе необходимо уменьшение возраста выполнения проктопластики. В ведущих мировых клиниках одномоментная операция выполняется даже при «высоких» аномалиях, но в настоящее время это является предметом научной дискуссии [9].

При ретроспективном анализе отмечена существенная «гипердиагностика» в определении уровня атрезии. Об этом говорят следующие данные: первичная проктопластика выполнена лишь 28 пациентам (69 случаев «низких» атрезий). Это связано с тем, что если ребенок оперируется вне ДХЦ, то при сомнении в диагнозе, отсутствии специального оборудования (электростимулятор), отсутствии опыта у хирурга выполняется колостомия даже при «низкой» форме аноректального порока. Другой причиной, приводящей к диагностическим ошибкам, является то, что обследование детей с атрезией прямой кишки и не выявленным выходным отверстием проводится без учета степени заполнения дистальной части кишечной трубки. В первые 8–14 ч жизни воздух, заглоченный ребенком при рождении, только достигает прямой кишки. Для раскрытия возможно имеющегося анального канала необходимо некоторое время, чтобы в прямой кишке собрался достаточный объем газа и мекония. Кроме того, в первые 24 ч жизни узкие свищевые

отверстия не всегда легко обнаруживаются: они могут быть блокированы вязким меконием или слизью, а в более старшем возрасте обследованию может мешать наличие вязкого секрета. Большое значение имеет и степень заполнения слепого мешка терминального отдела кишки, что необходимо для повышения в нем давления до порогового уровня. Нарушение степени заполнения может быть следствием недоношенности, нарушения проходимости вышележащих отделов кишечной трубки (атрезии пищевода, атрезии тонкой и толстой кишки), родовых травм и других причин. В связи с этим, на наш взгляд, основой для диагностики форм порока, определения фактического уровня атрезии и выявления выходного отверстия является выжидательная тактика в течение 12–24 ч. Многие свищи у новорожденных с отсутствующим анальным отверстием могут быть обнаружены в сроки не ранее 24–36 ч после рождения [10, 11]. Для уменьшения количества диагностических и тактических ошибок при данном типе порока можно предложить транспортировку новорожденных с ВПР АРО в РНПЦ детской хирургии.

Для коррекции «низких» атрезий (ректо-промежностные свищи и ректальная атрезия с расстоянием менее 1 см до кожи) в 2010–2014 гг. новорожденным выполнены следующие первичные операции: проктопластика по Стоуну – 2 пациентам, переднесагитальная – 6, минимальная заднесагитальная – 7 пациентам. В последнее время отдается предпочтение минимальной заднесагитальной проктопластике, которая обеспечивает лучшую визуализацию мышц наружного анального сфинктера. Операция проводится с помощью электромиостимулятора Electronic incontinence stimulation 5000 или аналогичного, позволяющего обнаружить мышечный комплекс и мышцы наружного анального сфинктера. Накопленный 40-летний опыт в лечении данного порока развития в сочетании с развитием эндохирургии позволил пересмотреть традиционные методы лечения. В 2000 г. Georgeson [12] для лечения «высоких» форм атрезии предложил новую технику, которая сочетает в себе лапароскопический метод и минимальный доступ на промежности. Данная методика начала использоваться в нашей клинике в 2012 г. у пациентов при операциях по поводу ректоуретрального (простатического) и ректовезикальных свищей. Считаем применение лапароскопии не альтернативой методу БППП, а ее естественным развитием и совершенствованием.

Для улучшения качества жизни пациентам – носителям коло- и энтеростом в Республике Беларусь создана служба стомийной помощи детям. Ребенок с ВПР АРО наблюдается в Республиканском детском реабилитационном кабинете стомийной помощи, организованном на функциональной основе в ДХЦ, имеющем врачебную и сестринскую штатные ставки. В кабинете осуществляются организация учета, специализированного диспансерного наблюдения за больными детьми с временными и постоянными энтеро- и колостомами; социально-медицинская реабилитация детей путем индивидуального подбора адекватных кало- и мочеприемников и других дополнительных средств ухода за стомами; обучение родителей правильному их применению. Для получения калоприемников необходимо предоставить следующие документы: свидетельство об инвалидности, ксерокопию свидетельства о рождении, выписку из истории болезни о проведенном оперативном лечении, справку из поликлиники о нуждаемости в калоприемниках (ежемесячно). Бесплатная выдача стомийного оснащения при однокомпонентных системах осуществляется из расчета 30 штук на месяц. После окончания оперативного лечения диспансерное наблюдение осуществляется до 18 лет детским хирургом и участковым врачом-педиатром (при необходимости – другими специалистами) по месту жительства. По белорусскому законодательству ребенок в период носительства стомы признается инвалидом, т. е. родители получают дополнительные финансовые средства для ухода за ним.

Следует отметить, что каждый вариант порока требует исключительно индивидуального подхода. Основным методом диагностики для определения уровня атрезии и свищевого хода является дистальная колостография. Она выполняется в сроки, когда ребенок поступает для проведения второго этапа операции – проктопластики (4–10 мес.), и осуществляется с применением водорастворимого контраста под повышенным давлением (используется катетер Фоллея) для определения свищевого хода.

Виды операций. Следующим моментом, позволяющим рассчитывать на получение хорошего функционального результата, является выбор метода операции. Всегда врач – детский хирург должен избрать наименее травматичное оперативное вмешательство.

Технические моменты операций. При проведении различных видов проктопластик придерживались определенных технических моментов:

1. Для проктопластики, ушивания подкожных тканей и кожи использовали только синтетический рассасывающийся атравматический шовный материал (викрил 4/0–5/0), кожные швы снимали на 10-е сутки после операции.

2. Для тракции и удержания кишки использовали множественные нити-держалки, что позволяло снизить степень повреждения тканей.

3. Тщательно контролировали полноту гемостаза при выполнении всех этапов операции. Для остановки кровотечения применяли электрокоагуляцию, предпочтение отдавали биполярной.

4. Для профилактики гнойных осложнений проводили профилактическую антибиотикотерапию – во время операции вводили цефалоспорины 2–3 поколения в сочетании с метронидазолом в возрастных дозировках. Профилактическая антибиотикотерапия позволяла создать максимальную концентрацию препарата в момент возможного инфицирования операционного поля (по ходу вмешательства). Антибактериальную терапию после операции проводили весь период дренирования мочевого пузыря и далее в течение 5–7 сут.

5. Для трансуретрального дренирования мочевого пузыря использовали катетеры возрастного размера. Продолжительность дренирования мочевого пузыря сокращали до минимума (на сегодняшний день это определяется временем функционирования перидурального катетера, используемого для послеоперационного обезболивания). При катетеризации мочевого пузыря использовали закрытые дренажные системы.

6. По возможности рану промежности оставляли открытой.

7. Активно привлекаем родителей, самых заинтересованных лиц, для ухода за раной на промежности. Постоянное присутствие мамы позволяет обеспечить субъективную защищенность (спокойствие) ребенку, контролировать положение ребенка (не разрешается сидеть). После обучения родители осуществляют частые обработки раны промежности раствором антисептика (предпочтительно бетадина), обеспечивая тем самым ее оптимальное открытое ведение.

Сразу при рождении ребенка, особенно если перинатально не был установлен диагноз, факт рождения ребенка с ВПР для семьи является стрессом. По данным нашего анкетированного опроса (54 анкеты), 15 % родителей сразу хотели отказаться от ребенка. При этом родители называли следующие причины: финансовые трудности, общественное мнение, которое рассматривает наличие ребенка-инвалида в семье как нечто постыдное; отсутствие навыков для надлежащего ухода за таким ребенком; мнение, что интегрирование такого ребенка в общество нереально.

Выяснение возможных причин болезни омрачено эмоциональным климатом, который окружает факт рождения ребенка с ВПР. Необдуманный комментарий врача, медсестры или студента во время контакта с родителями ребенка может иметь плохие последствия как для врача, так и для семьи. В 2 случаях мамы детей с ВПР АРО были госпитализированы из ДХЦ в психиатрические отделения с расстройствами психики. Это накладывает ответственность на каждого врача, работающего в эмоционально напряженной ситуации, когда в семье появляется ребенок с врожденным дефектом. Потому важно привлечь родителей на свою сторону, сделать их участниками процесса лечения их ребенка. В клинике выработано несколько принципов работы с родителями (мамами) пациентов. Сразу после рождения ребенка с пороком обеспечиваем контакт родителей с другими родителями, ухаживающими за пациентами, причем желательно с одинаковой патологией. При этом преследуем несколько целей:

1. Снятие психологического стресса после рождения ребенка с ВПР. Родители видят и постепенно осознают, что они не одни, есть такие же дети, которые нормально развиваются психологически, социально адаптированы в семье, школе, обществе. Особенно показательно, если дети постарше.

2. Общаясь с «опытными» родителями «новые» осваивают такие практические навыки ухода и работы со средствами реабилитации, как смена колоприемника, постановка мочевого катетера, клизмы, выполнение перевязки. Опыт показывает, что такие навыки быстрее передаются и осваиваются при обучении на уровне «мама–мама», чем «мама–медицинская сестра» или «мама–доктор».

С рождением ребенка с ограниченными возможностями, как правило, «инвалидизируется» вся семья. Члены семьи также страдают от дискриминации и стигматизации, связанной с его инвалидностью. Семьи испытывают финансовые, социальные, физические и эмоциональные проблемы. Распад семьи – частое явление. По данным анкетированного опроса, в течение 3 лет после рождения ребенка с ВПР АРО 20 % семей распадаются. Как правило, отец уходит из семьи или не принимает участия в заботе о ребенке с ограниченными возможностями. Следует обратить внимание на тот факт, что уровень дохода семьи, воспитывающей ребенка с ВПР, составляет 50–75 % от среднего по стране.

Во всем мире родительские группы и общественные организации играют центральную роль в содействии изменению положения детей с ограниченными возможностями. Родители самоорганизуются в группы для оказания психологической, материальной, юридической помощи. В век коммуникаций родители образуют социальные сообщества. В Республике Беларусь консультативная психологическая и юридическая помощь организована на сайте http://rebenok.by/community/index.php/topic,99502.0.html, где освещены вопросы инвалидности детей. На всей территории страны родители предлагают дальнейшую поддержку в виде консультаций, обмена опытом, самостоятельных семинаров и других проектов.

Применение разработанной системы диагностики и лечения пациентов с ВПР АРО обеспечило уменьшение в отдаленном периоде летальности с 20 % (1980 г.), 7 % (1990 г.) до 1,8 % (2014 г.) ($p < 0{,}001$). Сокращена длительность пребывания больных в стационаре. Если ребенок в 1990 г. находился в отделении интенсивной терапии и реанимации 7 ± 3,4 сут, а в ДХЦ – 22,2 ± 3,9 сут, то в 2014 г. – 4,8 ± 1,2 и 14,7 ± 3,4 сут соответственно ($\chi^2 = 1{,}256$, $p = 0{,}429$ и $\chi^2 = 1{,}1694$, $p = 0{,}919$). Количество повторных операций уменьшилось с 20 % (1980 г.) до 5 % (2014 г.).

Выводы

1. Концентрация детей в специализированном учреждении, стандартизация подходов для определения показаний к операции, операционной тактики, послеоперационного ведения позволяет оптимизировать результаты лечения пациентов с врожденной аноректальной аномалией. Учитывая географические условия Республики Беларусь («центральное» расположение г. Минска, самое дальнее расстояние от столицы – 380 км), эксклюзивность патологии – 20 случаев в год, концентрацию дорогостоящего оборудования и квалифицированного персонала, необходимо осуществлять лечение этих пациентов в одном учреждении – РНПЦ детской хирургии.

2. Исходя из структуры диагностических и, соответственно, тактических ошибок, послеоперационных осложнений, есть необходимость в совершенствовании организации медицинской помощи с целью обеспечения ее непрерывности и преемственности при врожденных пороках развития плода с охватом антенатального и постнатального периода, а также улучшения результатов лечения и качества жизни пациентов.

3. Организация правильного взаимодействия между учреждениями в процессе ведения пациента с диагнозом ВПР АРО должна осуществляться в пределах имеющихся условий и ресурсов. Необходим контроль лечения, выявления и устранения отклонений в течении процесса лечения, что позволит своевременно предупредить возникновение ошибок.

4. Предложенный нами подход к проблеме лечения отдельной патологии (ВПР АРО) в виде стандартизаци в диагностике, определения показаний к операции, интраоперационной тактики, послеоперационного ведения позволяет получить наилучший результат при минимальных затратах и свести к минимуму осложнения на всех этапах лечения. Аналогичные подходы могут быть применены при лечении более обширных групп пациентов.

Список использованных источников

1. Демографический ежегодник Республики Беларусь: стат. сб. – Минск, 2015. – Режим доступа: //http://www.belstat.gov.by/bgd/public_compilation/ index_703/. – Дата доступа: 09.08.2015.

2. О порядке регистрации врожденных аномалий (пороков развития) у ребенка (плода): приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь 14 марта 2007 г. № 163 // Консультант Плюс: Беларусь. Технология Проф [Электронный ресурс] / ООО «ЮрСпектр». – Минск, 2015.

3. Preliminary report on the International Conference for the Development of Standards for the Treatment of Anorectal Malformations / A. Holschneider [et al.] // J. of Pediatr. Surg. – 2005. – N 40. – P. 1521–1526.

4. Об утверждении Инструкции о порядке проведения медико-генетического консультирования и диагностики граждан в государственных организациях здравоохранения: постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь 28 марта 2007 г. № 26 // Консультант Плюс: Беларусь. Технология Проф [Электронный ресурс] / ООО «ЮрСпектр». – Минск, 2015.

5. Информированное согласие на медицинское вмешательство: медико-правовые аспекты / Ю. Г. Дегтярев [и др.] // Здравоохранение. – 2014. – № 2. – С. 19–29.

6. Об утверждении Инструкции о порядке проведения искусственного прерывания беременности: постановление министерства здравоохранения Республики Беларусь от 7 февраля 2007 г. № 15 // Консультант Плюс: Беларусь. Технология Проф [Электронный ресурс] / ООО «ЮрСпектр». – Минск, 2015.

7. Levitt, M. A. Anorectal malformations / M. A. Levitt, A. Peña // Orphanet. J. Rare Dis. – 2007. – N 2. – P. 22–33.

8. De Vries, P. Posterior sagittal anorectoplasty / P. de Vries, A. Pena // Pediatr. Surg. – 1982. – N 17. – P. 638–643.

9. Kluth, D. The principles of normal and abnormal hindgut development / D. Kluth, M. Hillen, W. Lamprecht // Pediatr. Surg. – 1995. – N 30. – P. 1143–1147.

10. Стандартизация рентгенологического исследования толстой кишки и аноректальной зоны / М. Д. Левин [и др.] // Новости хирургии. – 2013. – № 21 (4). – С. 90–98.

11. Никифоров, А. Н. Диагностика и лечение эктопии анального канала / А. Н. Никифоров, М. Д. Левин, Й. Ф. Абу-Варда // Вестн. хирургии им. И. И. Грекова. – 1990. – № 145 (8). – С. 78–82.

12. Georgeson, K. Laparoscopically assisted anorectal pull-through for high imperforate anus – a new technique / K. Georgeson, T. Inge, C. J. Albanese // Pediatr. Surg. – 2000. – Vol. 35, N 7. – P. 927–931.

References

1. (2015) “Demographic Yearbook of the Republic of Belarus: statistical yearbook”, Minsk, BY, Available at: //http://www.belstat.gov.by/bgd/public_compilation/ index_703/, (Accessed 09 August 2015).

2. (2007) “On the procedure of registration of congenital anomalies (birth defects) in the baby (fetus): the order of the Ministry of Health of the Republic of Belarus March 14, 2007 N 163”, Available at: http://systemaby.com/docs/bitca/dk-mv-5fir.html, (Accessed 09 August 2015).

3. Holschneider, A., Hutson, J, Peña, A., Beket, E., Chatterjee, S., Coran, A., Davies, M., Georgeson, K., Grosfeld, J., Gupta, D., Iwai, N., Kluth, D., Martucciello, G., Moore, S., Rintala, R., Smith, E. D., Sripathi, D. V., Stephens, D., Sen, S., Ure, B., Grasshoff, S., Boemers, T., Murphy, F., Söylet, Y., Dübbers, M. and Kunst, M. (2005) “Preliminary report on the International Conference for the Development of Standards for the Treatment of Anorectal Malformations”, *Journal of Pediatric Surgery*, no. 40, pp. 1521-1526.

4. “On Approval of Instruction on the procedure for medical genetic counseling and diagnosis of citizens in public health institutions: the decision of the Ministry of Health of the Republic of Belarus March 28, 2007 N 26”, Available at: http://www.bankzakonov.com/republic_pravo_by_2010/blockw9/rtf-e8w4f8.htm, (Accessed 09 August 2015).

5. Degtyarev, Yu. G., Fomin, O. Yu., Soltanovich, A. V. and Marzelieze, S. (2014) “Informed consent to medical intervention: medical-legal aspects”, *Zdravookhranenie* [Health], no. 2, pp. 19-29.

6. “On Approval of Instruction on the procedure of abortion: the Ministry of Health decree of the Republic of Belarus of February 7, 2007 N 15”, Available at: http://www.pravo.by/pdf/2007-70/2007-70(099-119).pdf, (Accessed 09 August 2015).

7. Levitt, M. A. and Peña, A. (2007) “Anorectal malformations”, *Orphanet Journal of Rare Diseases*, no. 2, pp. 22-33.

8. De Vries, P. and Pena, A. (1982) “Posterior sagittal anorectoplasty”, *Pediatric Surgery*, no. 17, pp. 638-643.

9. Kluth, D., Hillen, M. and Lamprecht, W. (1995) “The principles of normal and abnormal hindgut development”, *Pediatric Surgery*, no. 30, pp. 1143-1147.

10. Levin, M. D., Degtyarev, Yu. G., Averin, V. I., Abu-Varda, I. F. Bolbas, T. M. (2013) “Standardization of X-ray examination of the colon and anorectal area”, *Novosti khirurgii* [Surgery News], no. 21 (4), pp. 90-98.

11. Nikiforov, A. N., Levin, M. D. and Abu-Varda, J. F. (1990) “Diagnosis and treatment of ectopic anus», *Vestnik khirurgii imeni I. I. Grekova* [Journal of Surgery named I. I. Grekova], no. 145 (8), pp. 78-82.

12. Georgeson, K., Inge, T. and Albanese, C. J. (2000) “Laparoscopically assisted anorectal pull-through for high imperforate anus – a new technique”, *Pediatric Surgery*, vol. 35, no. 7, pp. 927-931.

Информация об авторах

Дегтярев Юрий Григорьевич – доцент кафедры детской хирургии. Белорусский государственный медицинский университет (ул. Есенина, 25-1-48, 220025, Минск, Республика Беларусь). E-mail: dzehtyarov@mail.ru

Abu Warda Iyad Farid – Associate Professor, Department of Pediatric Surgery. Belarusian Academy of Postgraduate Education (2-02-20, Shishkin Str., 220118, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: warda2004@mail.ru

Фомин Олег Юрьевич – главный врач 1-й городской клинической больницы г. Минска (2-130, ул. Каганца, 220028, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lpu1gkb@mail.belpak.by

Information about the authors

Degtyarev Youri – Associate Professor, Department of Pediatric Surgery. Belarusian State Medical University (25/01/48, Esenina Str., 220025, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dzehtyarov@mail.ru

Абу-Варда Ияд Фарид – доцент кафедры детской хирургии. Белорусская академия последипломного образования (ул. Шишкина, 20-2-2, 220118, Минск, Республика Беларусь). E-mail: warda2004@mail.ru

Fomin Oleg – the Chief Doctor of the 1st City Clinical Hospital of Minsk (2-130, Kaganantsa Str., 220118, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lpu1gkb@mail.belpak.by

Для цитирования

Дегтярев, Ю. Г. Система оказания медицинской помощи детям с врожденной аноректальной патологией в Беларуси / Ю. Г. Дегтярев, Я. Ф. Абу-Варда, О. Ю. Фомин // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – № 4. – С. 32–43.

For citation

Degtyarev Ju. G., Abu Varda J. F., Fomin O. J. System care for children with congenital anorectal pathology in Belarus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series*, 2016, no. 4, pp. 32–43.

ISSN 1814-6023 (print)
УДК 616.62-006.6-037:616-036.82/.86]:616-08(476)

Поступила в редакцию 16.08.2016
Received 16.08.2016

А. И. Ролевич

Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь

БЕЗРЕЦИДИВНАЯ ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПРИ РАКЕ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ БЕЗ МЫШЕЧНОЙ ИНВАЗИИ

Роль ряда терапевтических воздействий при раке мочевого пузыря без мышечной инвазии (РМПБМИ) четко не определена. С учетом гетерогенности РМПБМИ по прогнозу и возможной связи эффективности терапии с риском рецидива целесообразно изучать указанную эффективность в определенных прогностических стратах. Целью работы стала оценка влияния различных терапевтических воздействий на безрецидивную выживаемость пациентов, страдающих РМПБМИ, в различных прогностических группах.

Ретроспективно проанализированы результаты лечения пациентов с РМПБМИ (n = 921), которые были разделены на 4 группы риска рецидива. Безрецидивную выживаемость вычисляли по методу Каплана–Мейера, статистическую значимость различий оценивали с помощью log-rank теста.

Медиана наблюдения составила 61 мес. Выполнение фотодинамической диагностики совместно с трансуретральной резекцией (ТУР) приводило к существенному улучшению безрецидивной выживаемости в группах высокого и крайне высокого риска. Преимущество от выполнения ТУР опытным хирургом и иммунотерапии вакциной бациллы Кальметта–Герена (БЦЖ) отмечалось в группах промежуточного, высокого и крайне высокого риска. Однократная инстилляция доксорубицина и ранняя повторная ТУР существенно не влияли на безрецидивную выживаемость ни в одной прогностической страте.

На основании стратифицированного анализа эффективности различных воздействий определены показания к выполнению ТУР хирургом с большим опытом проведения операций, адъювантной иммунотерапии БЦЖ и фотодинамической диагностики при РМПБМИ.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря без мышечной инвазии, группы риска, безрецидивная выживаемость, трансуретральная резекция, внутрипузырная терапия, фотодинамическая диагностика.

A. I. Rolevich

N. N. Alexandrov National Cancer Centre, Minsk, Republic of Belarus

RECURRENCE-FREE SURVIVAL IN PATIENTS WITH NON-MUSCLE BLADDER CANCER

The role of a number of therapeutic interventions for non-muscle invasive bladder cancer (NMIBC) is poorly defined. Taking into account the prognostic heterogeneity of NMIBC and a possible interaction of treatment efficacy with a recurrence risk group, it is reasonable to compare the latter within certain prognostic strata. The objective of this study was to evaluate the efficacy of different therapeutic interventions on recurrence-free survival in patients with NMIBC in different prognostic groups.

Retrospectively, we analyzed the results of treatment of 921 patients with NMIBC who were distributed into 4 recurrence risk groups. Recurrence-free survival was calculated using the Kaplan–Meier method and the statistical significance for the differences was assessed during a log rank test.

The median follow-up was 61 months. Transurethral resection (TUR) assisted by photodynamic diagnostic resulted in a significant improvement in recurrence-free survival in the high and very high risk groups. The advantage of TUR performed by an experienced surgeon and BCG immunotherapy was pronounced in the intermediate, high and very high risk groups. Single instillation of doxorubicin and reTUR do not substantially affect prognosis in any risk stratum.

Based on a stratified analysis of various treatments efficacy we defined the indications for TUR performed by an experienced surgeon, adjuvant BCG immunotherapy and photodynamic diagnosis in patients with NMIBC.

Keywords: non-muscle invasive bladder cancer, risk groups, recurrence-free survival, transurethral resection, intravesical therapy, photodynamic diagnosis.

Введение. Рак мочевого пузыря без мышечной инвазии (РМПБМИ) является наиболее частой формой рака мочевого пузыря, достигая 55–80 % от всех впервые выявленных случаев данной патологии [1]. Несмотря на относительно благоприятный прогноз, до 70 % таких опухолей в отдаленные сроки после радикального лечения рецидивируют, а 15–30 % – прогрессируют в мышечно-инвазивный рак [2]. Для профилактики рецидивов и прогрессирования РМПБМИ используется ряд подходов, включающих однократную раннюю внутрипузырную инстилляцию

© Ролевич А. И., 2016

химиопрепаратов после трансуретральной резекции (ТУР) [3], курсы внутрипузырной химио- или иммунотерапии вакциной бациллы Кальметта–Герена (БЦЖ) [4], выполнение ТУР под контролем фотодинамической диагностики (ФДД) [5] и раннюю повторную ТУР [6]. Хорошо известной особенностью РМПБМИ является гетерогенность этой патологии по прогнозу как в отношении рецидивирования, так и в отношении прогрессирования, что позволило разделить весь спектр РМПБМИ на ряд групп риска [7].

Накоплено достаточно данных, позволяющих утверждать, что эффективность применяемых методов лечения РМПБМИ у пациентов разных групп риска различна. Так, если эффект однократной ранней инстилляции химиопрепарата ограничен только опухолями с благоприятным прогнозом [8], то эффективность БЦЖ максимальна при опухолях с неблагоприятным прогнозом [9]. Поэтому целесообразно изучать эффективность различных терапевтических воздействий на РМПБМИ в определенных прогностических стратах. Кроме того, для адекватной оценки эффективности того или иного воздействия и избегания систематической ошибки, обусловленной гетерогенностью групп сравнения, необходимо проводить анализ в относительно прогностически однородной группе пациентов.

Цель данного исследования – оценка эффективности различных терапевтических воздействий в отношении безрецидивной выживаемости при раке мочевого пузыря без мышечной инвазии в разных прогностических группах.

Материалы и методы исследования. В исследование были включены все пациенты с первичным или рецидивным РМПБМИ с использованием ТУР, проходившие лечение в нашем учреждении с 2004 по 2013 г. Пациенты, получившие повторное, нерадикальное или нестандартное (фотодинамическая терапия) лечение, а также лица, которым была выполнена радикальная цистэктомия, были исключены из анализа. Из исследования были исключены также пациенты с наличием подтвержденной мышечной инвазии, в том числе в анамнезе, с отсутствием гистологической верификации или непереходно-клеточным морфологическим типом опухоли, с синхронными или предшествующими лечению опухолями верхних мочевых путей. Кроме того, были исключены все случаи карциномы *in situ* (CIS) без сопутствующих папиллярных опухолей и случаи без доступных данных о наблюдении. Всего в соответствии с вышеперечисленными критериями в исследование отобран 921 пациент, характеристика которых приведена в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. **Характеристика пациентов в исследуемой когорте**

Признак	К-во пациентов (%)
Пол:	
женский	195 (21,2)
мужской	726 (78,8)
Возраст, лет:	
≤60	300 (32,6)
61–70	270 (9,3)
71–80	285 (30,9)
>80	66 (7,2)
Частота рецидивов:	
первичные	666 (72,3)
>1 рец/год	180 (19,5)
<1 рец/год	75 (8,1)
Мультифокальность:	
одиночная	395 (42,9)
2–7	407 (44,2)
8 и более	119 (12,9)
Размер опухоли в наибольшем измерении, см:	
<1	94 (10,2)
1–3	527 (57,2)
≥3	300 (32,6)

Окончание табл. 1

Признак	К-во пациентов (%)
Категория pT:	
Ta	384 (41,7)
T1	537 (58,3)
Сопутствующая CIS:	
нет	912 (99,0)
да	9 (1,0)
Степень злокачественности:	
G1	588 (63,8)
G2	282 (30,6)
G3	51 (5,5)
Дополнительные воздействия:	
ФДД	173 (18,8)
ранняя однократная инстилляция	160 (17,4)
Внутрипузырная терапия:	192 (20,9)
БЦЖ	184 (20,0)
химиотерапия	8 (0,9)
повторная ТУР	82 (8,9)

Всем пациентам проводилось стандартное лечение, которое начиналось с выполнения макроскопически полной ТУР. У 173 (19 %) пациентов вмешательство проводили под контролем ФДД. Лечение включало предоперационную инстилляцию раствора аминолевулиновой кислоты («Аламин», НПЦ «ХимФармСинтез») и дополнительное выполнение цистоскопии в синем свете для выявления субклинических опухолей в мочевом пузыре (табл. 1). У 160 (17 %) пациентов выполнена однократная инстилляция раствора 50 мг доксорубицина в течение 6 ч после ТУР. Решение о проведении вышеуказанных мероприятий принималось либо в ходе проведения рандомизированного исследования на базе нашего учреждения, либо лечащим врачом/хирургом.

Из 921 операции 896 (97,3 %) было выполнено 7 хирургами – тремя более опытными (527 (57,2 %) операций) и четырьмя менее опытными (369 (40,1 %) операций). У 5 из 7 хирургов проведена оценка отдаленных результатов операций [10], у 2 – учтен опыт выполнения ТУР (более 10 лет у одного и менее 5 лет у другого).

По решению лечащего врача с учетом клинических и патоморфологических данных 82 (9 %) пациентам выполнена повторная ТУР через 2–6 недель после первичной, которая включала резекцию остаточных опухолей (при их наличии) и перезекцию зоны предыдущей ТУР. При обнаружении мышечно-инвазивной опухоли такого пациента исключали из дальнейшего исследования, при этом выявление неинвазивного рака как рецидив не учитывали.

Курс адъювантной внутрипузырной иммуно- и химиотерапии проведен 184 (20 %) и 8 (1 %) пациентам соответственно. Иммунотерапия в подавляющем большинстве случаев включала 6-недельный курс БЦЖ («Имурон», ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи») без поддерживающих инстилляций.

Для наблюдения за пациентами использовали цистоскопию или УЗИ, которые большинстве случаев выполняли по месту жительства. В исследование включали только тех пациентов, в медицинской документации которых имелись данные о состоянии мочевого пузыря либо сведения об обследовании по месту жительства, а также лица, которым была выполнена контрольная цистоскопия в нашем учреждении.

Рецидивом считали выявление гистологически верифицированной опухоли в мочевом пузыре или простатической уретре. Пациенты без рецидива были цензурированы датой последнего контроля.

Все пациенты были разбиты на 4 группы риска рецидива и прогрессирования в соответствии с ранее разработанной классификацией [11]. Для определения принадлежности к той или иной группе риска рецидива определенному уровню каждого из пяти признаков (частота рецидивирования, количество опухолей, размер опухоли в наибольшем измерении, степень дифференцировки

и локализация опухоли) присваивался весовой балл от 0 до 4, затем баллы суммировались и в зависимости от результирующей суммы пациента относили к той или иной категории риска рецидива (низкий риск – 0 баллов, промежуточный – 1–3, высокий – 4–6, крайне высокий – 7 и более баллов).

Проведен анализ частоты использования различных терапевтических методов в разных группах риска. По методу Каплана–Мейера построены графики безрецидивной выживаемости в зависимости от проведения того или иного вида лечения в различных прогностических стратах. Статистическая значимость различий оценена при помощи log-rank теста. Все значения *p* были двусторонними. Для расчетов использовали статистический пакет IBM SPSS V21.0 (Armonk, США).

Результаты и их обсуждение. Медиана наблюдения составила 3,8 года, разброс значений – 1–13,5 года. В течение этого периода рецидивы были зарегистрированы у 344 (37,4 %) обследуемых. В общей группе пациентов наблюдались статистически значимые различия в безрецидивной

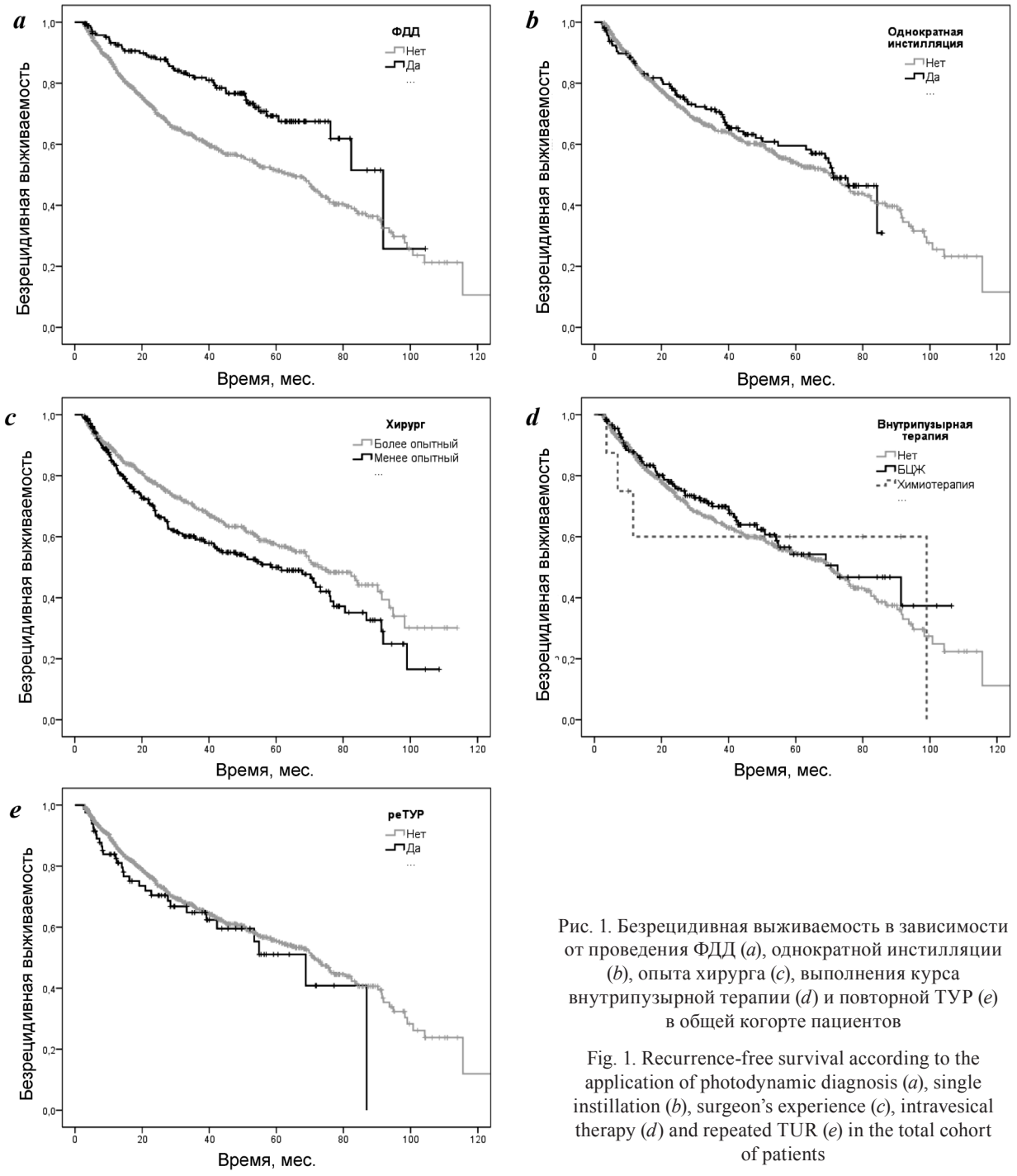


Рис. 1. Безрецидивная выживаемость в зависимости от проведения ФДД (*a*), однократной инстилляции (*b*), опыта хирурга (*c*), выполнения курса внутрипузырной терапии (*d*) и повторной ТУР (*e*) в общей когорте пациентов

Fig. 1. Recurrence-free survival according to the application of photodynamic diagnosis (*a*), single instillation (*b*), surgeon's experience (*c*), intravesical therapy (*d*) and repeated TUR (*e*) in the total cohort of patients

выживаемости, обусловленные проведением ФДД ($p < 0{,}0001$; рис. 1, *a*) и опытом хирурга ($p = 0{,}010$; рис. 1, *c*), и не было статистически значимых различий, обусловленных выполнением однократной инстилляции, внутрипузырной терапии, повторной ТУР или отсутствием этих вмешательств.

При анализе распределения различных воздействий в зависимости от группы риска (табл. 2) выявлена статистически значимая связь частоты проведения иммунотерапии БЦЖ и повторной ТУР с усугублением группы риска и несколько более частое использование ТУР под контролем ФДД при опухолях с благоприятным или промежуточным прогнозом, что затрудняло интерпретацию выявленных различий в безрецидивной выживаемости в общей когорте пациентов.

Т а б л и ц а 2. **Распределение методов терапии в зависимости от риска рецидива**

Метод лечения	К-во пациентов (%)					*p*
	Низкий риск	Промежуточный риск	Высокий риск	Крайне высокий риск	Всего	
ТУР под контролем ФДД	41 (20,6)	72 (22,2)	44 (15,8)	16 (13,6)	173 (18,8)	0,085
Однократная инстилляция доксорубицина	36 (18,1)	62 (19,1)	42 (15,1)	20 (16,9)	160 (17,4)	0,62
Хирург:						
более опытный	114 (58,8)	173 (55,4)	165 (60,4)	75 (64,1)	527 (58,8)	0,38
менее опытный	80 (41,2)	139 (44,6)	108 (39,6)	42 (35,9)	369 (41,2)	
Внутрипузырная терапия:						
БЦЖ	8 (4,0)	54 (16,6)	82 (29,4)	40 (33,9)	184 (20,0)	<0,0001
химиотерапия	1 (0,5)	3 (0,9)	3 (1,1)	1 (0,8)	8 (0,9)	
повторная ТУР	5 (2,5)	21 (6,5)	32 (11,5)	24 (20,3)	82 (8,9)	<0,0001
Итого	199 (100)	325 (100)	279 (100)	118 (100)	921 (100)	

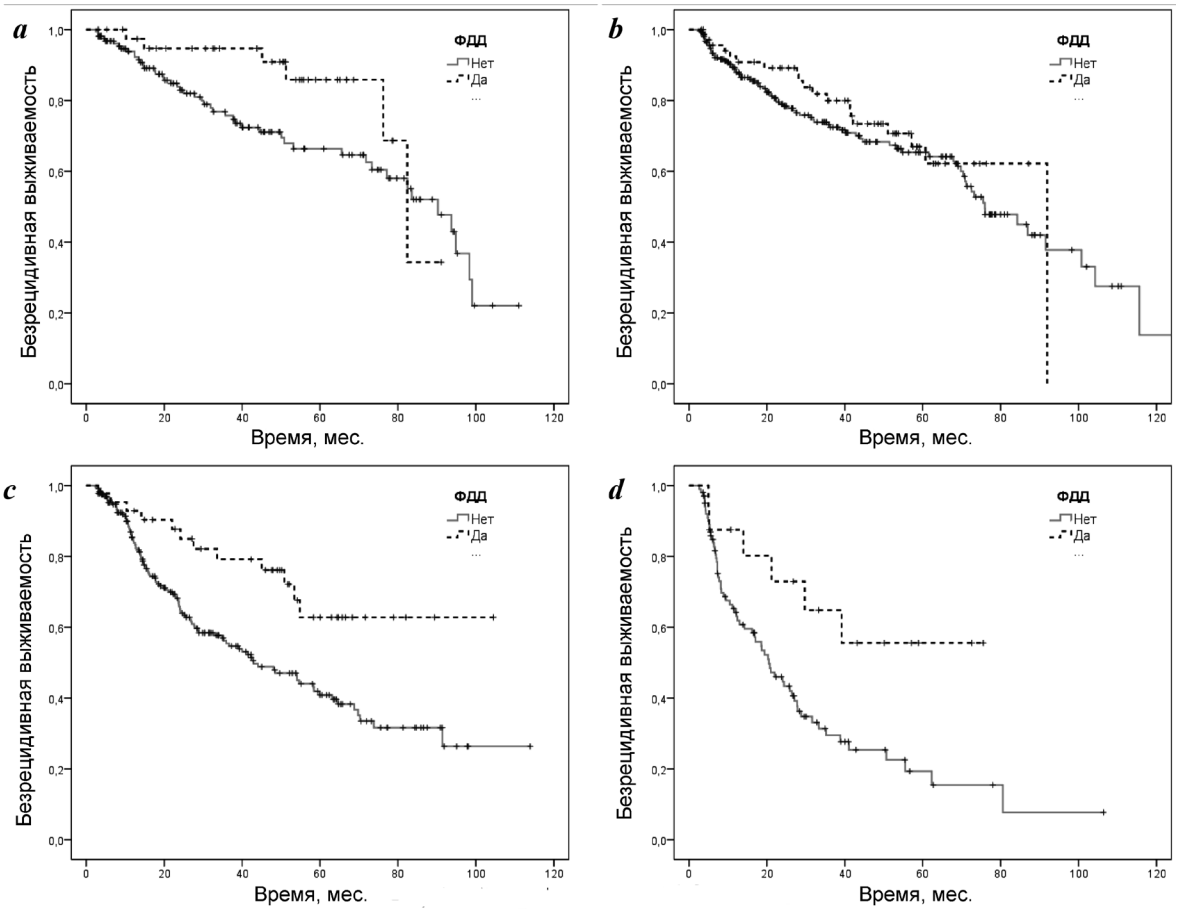


Рис. 2. Безрецидивная выживаемость в зависимости от проведения ФДД во время ТУР в группе низкого (*a*), промежуточного (*b*), высокого (*c*) и крайне высокого (*d*) риска рецидива

Fig. 2. Recurrence-free survival according to the application of photodynamic diagnosis at the time of TUR in low risk (*a*), intermediate (*b*), high (*c*), and very high (*d*) recurrence risk groups

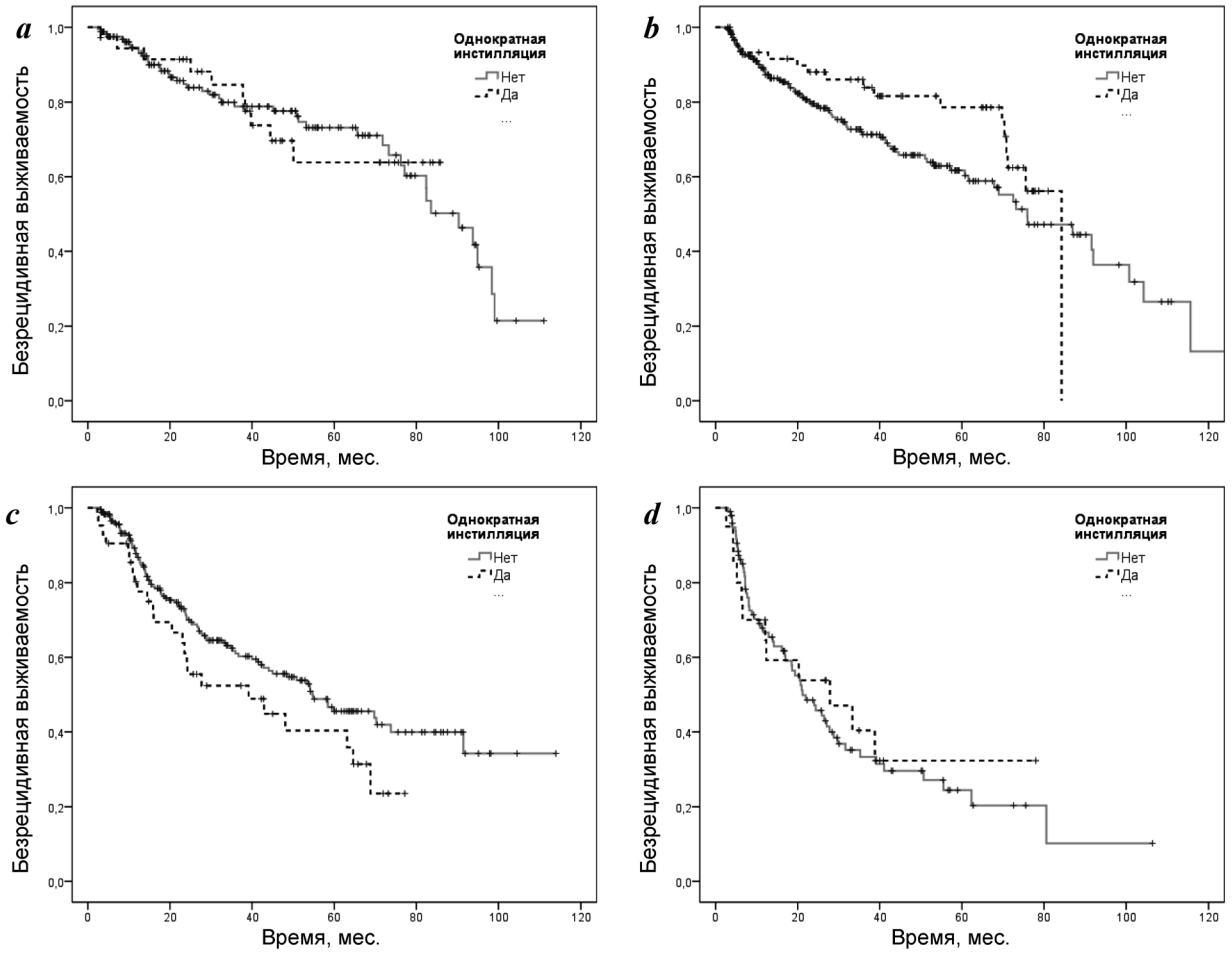


Рис. 3. Безрецидивная выживаемость в зависимости от проведения однократной инстилляции доксорубицина в группе низкого (*a*), промежуточного (*b*), высокого (*c*) и крайне высокого (*d*) риска рецидива

Fig. 3. Recurrence-free survival according to the application of single instillation of doxorubicin in low risk (*a*), intermediate (*b*), high (*c*), and very high (*d*) recurrence risk groups

При анализе безрецидивной выживаемости в зависимости от выполнения ФДД совместно с ТУР наиболее существенные различия наблюдались в группах высокого и крайне высокого риска (рис. 2). При проведении однократной инстилляции доксорубицина данный показатель не отличался от результатов лечения пациентов без использования однократной инстилляции (рис. 3). Преимущество выполнения ТУР опытным хирургом отмечалось в группах промежуточного, высокого и крайне высокого риска, причем в первом и последнем случаях – статистически значимо (рис. 4). Проведение иммунотерапии с использованием БЦЖ улучшало безрецидивную выживаемость в группах промежуточного, высокого и крайне высокого риска, однако в первых двух подгруппах различия не достигали уровня статистической значимости, что, по-видимому, связано с небольшим количеством пациентов, подвергшихся иммунотерапии (рис. 5). И наконец, как и в случае однократной инстилляции, ранняя повторная ТУР не была статистически значимо связана с улучшением безрецидивной выживаемости ни в одной прогностической страте (рис. 6).

Известно, что эффективность различных методов лечения РМПБМИ в различных прогностических группах РМПБМИ проявляется по-разному. Так, например, систематический обзор и мета-анализ индивидуальных данных пациентов Sylvester с соавт. [8] показал, что однократная ранняя инстилляции химиопрепарата после ТУР снижает риск рецидива только у пациентов с частотой рецидивов более 1 раза в год и с риском рецидива менее 5 баллов по шкале

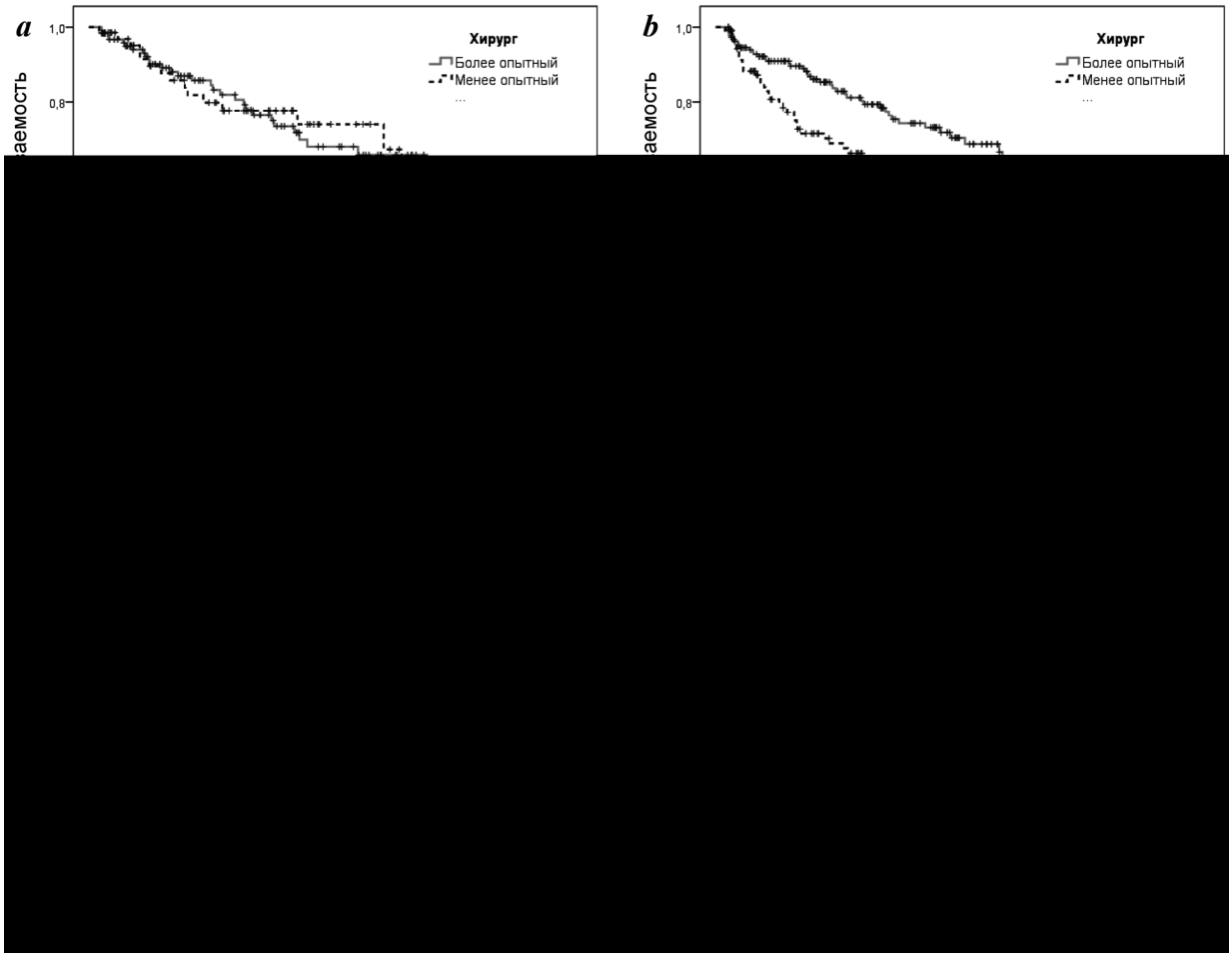


Рис. 4. Безрецидивная выживаемость в зависимости от опыта хирурга в группе низкого (*a*), промежуточного (*b*), высокого (*c*) и крайне высокого (*d*) риска рецидива

Fig. 4. Recurrence-free survival according to the surgeon's experience in low risk (a), intermediate (*b*), high (*c*), and very high (*d*) recurrence risk groups

EORTC, но неэффективна у пациентов с высоким риском рецидива. В то же время существует широкий консенсус о том, что иммунотерапия БЦЖ приносит наибольшую пользу пациентам с высоким риском рецидива и прогрессирования [9]. Исходя из этих различий, а также из доказанной эффективности, большинство международных организаций рекомендуют выполнение в подгруппе с низким риском рецидива однократной инстилляции химиопрепарата, а в группе с промежуточным прогнозом в дополнение к данному мероприятию – иммунотерапию БЦЖ с поддерживающими инстилляциями длительностью не более 1 года или внутрипузырную химиотерапию. При опухолях с неблагоприятным прогнозом (опухоли T1, G3 или большие, мультифокальные и часто рецидивирующие) рекомендуется проведение ранней повторной ТУР (опухоли T1, G3 или без мышечной ткани в препарате) и иммунотерапии БЦЖ с длительным курсом поддерживающих инстилляций (до 3 лет) [12–15]. В то же время не существует никаких рекомендаций по проведению ТУР под контролем ФДД и требований к опыту хирурга, что влияет на качество выполнения ТУР в зависимости от группы риска рецидива и прогрессирования.

В большинстве международных рекомендаций, основанных на подтвержденных данных, показанием к использованию ФДД является только подозрение (позитивная цитология при отсутствии видимой опухоли) на CIS [12, 14]. Только в публикации Международной Консультации по Урологическим Заболеваниям (ICUD) ФДД дополнительно рекомендуется для использования

домизированном сравнительном исследовании. В обеих группах для профилактики рецидивирования дополнительно проводилась внутрипузырная химиотерапия митомицином С. При медиане наблюдения 31,5 мес. частота рецидивов в группе с повторной ТУР составила 26 % по сравнению с 63 % в контрольной группе (p = 0,0001), частота прогрессирования – 4 и 12 % соответственно. В недавнем ретроспективном исследовании Sfakianos с соавт. [26] оценено влияние повторной ТУР на безрецидивную выживаемость в когорте из 1021 пациента. Количество ранних (через 3 мес.) рецидивов у пациентов, не подвергнутых повторной ТУР, было значительно выше (44 %), чем у пациентов после этого вмешательства (10 %). В мультивариантном анализе единственным предиктором рецидива было отсутствие повторной ТУР.

В отличие от приведенных работ, нами не выявлено улучшения прогноза у пациентов после повторной ТУР по сравнению с пациентами, не подвергавшимися этой операции. Необходимо отметить, что нами не оспаривается факт улучшения стадирования рака мочевого пузыря при помощи повторной ТУР и уточнения распространенности рака при выявлении мышечной инвазии, что должно вести к более радикальному лечению и улучшать прогноз у этих пациентов [6]. Тем не менее, для лучшего понимания роли и места этой процедуры в общем алгоритме лечения РМПБМИ следует учитывать отсутствие влияния повторной ТУР на отдаленные результаты лечения данной патологии, что, по-нашему мнению, может отражать приемлемое качество выполнения первичной ТУР, которое в данном исследовании отмечалось как у пациентов, оперированных более опытными хирургами, так и у лиц, оперированных менее опытными хирургами.

Заключение. Согласно полученным нами данным, у пациентов с РМПБМИ с низким риском рецидива дополнительные воздействия не показаны, так как не улучшают отдаленные результаты лечения. Операции могут выполняться хирургами с любым хирургическим опытом, что позволяет проводить обучение хирургов без ухудшения результатов. У пациентов с промежуточным риском рецидива хирургическое лечение должно выполняться хирургом с большим опытом проведения операций, поскольку такой подход связан со статистически значимым улучшением безрецидивной выживаемости. При невозможности этого таким пациентам должна назначаться адъювантная иммунотерапия БЦЖ, поскольку эффект БЦЖ существенно выше только у пациентов, оперированных менее опытными хирургами. У пациентов с высоким и крайне высоким риском рецидива показано использование ФДД совместно с ТУР. Такие пациенты должны оперироваться только опытными хирургами, а также подвергаться иммунотерапии БЦЖ.

Список использованных источников

1. Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer / M. Burger [et al.] // Eur. Urol. – 2013. – Vol. 63, N 2. – P. 234–241.

2. Recurrence and progression of disease in non-muscle-invasive bladder cancer: from epidemiology to treatment strategy / B. W. van Rhijn [et al.] // Eur. Urol. – 2009. – Vol. 56, N 3. – P. 430–442.

3. Falke, J. Contemporary management of low-risk bladder cancer / J. Falke, J. A. Witjes // Nat. Rev. Urol. – 2011. – Vol. 8, N 1. – P. 42–49.

4. The role of bacillus Calmette-Guérin in the treatment of non-muscle-invasive bladder cancer / P. Gontero [et al.] // Eur. Urol. – 2010. – Vol. 57, N 3. – P. 410–429.

5. Richards, K. A. The importance of transurethral resection of bladder tumor in the management of nonmuscle invasive bladder cancer: a systematic review of novel technologies / K. A. Richards, N. D. Smith, G. D. Steinberg // J. Urol. – 2014. – Vol. 191, N 6. – P. 1655–1664.

6. Herr, H. W. Role of Repeat Resection in Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer / H. W. Herr // J. Nat. Compr. Canc. Netw. – 2015. – Vol. 13, N 8. – P. 1041–1046.

7. 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 / R. J. Sylvester [et al.] // Eur. Urol. – 2006. – Vol. 49, N 3. – P. 465–466.

8. Systematic Review and Individual Patient Data Meta-analysis of Randomized Trials Comparing a Single Immediate Instillation of Chemotherapy After Transurethral Resection with Transurethral Resection Alone in Patients with Stage pTa-pT1 Urothelial Carcinoma of the Bladder: Which Patients Benefit from the Instillation? / R. J. Sylvester [et al.] // Eur. Urol. – 2016. – Vol. 69, N 2. – P. 231–244.

9. Ho, P. L. Immune therapies in non-muscle invasive bladder cancer. / P. L. Ho, S. B. Williams, A. M. Kamat // Curr. Treat. Options Oncol. – 2015. – Vol. 16, N 2. – P. 5.

10. Surgeon has a major impact on long-term recurrence risk in patients with non-muscle invasive bladder cancer / A. I. Rolevich [et al.] // Cent. Eur. J. Urol. – 2016. – Vol. 69. – P. 170–177.

11. Ролевич, А. И. Оценка риска рецидива и прогрессирования при раке мочевого пузыря без мышечной инвазии / А. И. Ролевич, Л. В. Мириленко // Онкоурология. – 2016. – N 4.

12. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: update 2013. / M. Babjuk [et al.] // Eur. Urol. – 2013. – Vol. 64, N 4. – P. 639–653.

13. ICUD-EAU International Consultation on Bladder Cancer 2012: Non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder / M. Burger [et al.] // Eur. Urol. – 2013. – Vol. 63, N 1. – P. 36–44.

14. Diagnosis and treatment of non-muscle invasive bladder cancer: AUA/SUO guideline [Electronic resource] / S. S. Chang [et al.]. – 2016. – Mode of access: https://www.auanet.org/common/pdf/education/clinical-guidance/Non-Muscle-Invasive-Bladder-Cancer.pdf. – Date of access: 19.07.2016.

15. Management of non-muscle invasive bladder cancer: a comprehensive analysis of guidelines from the United States, Europe and Asia / W. S. Tan [et al.] // Cancer. Treat. Rev. – 2016. – Vol. 47. – P. 22–31.

16. Detrusor muscle in the first, apparently complete transurethral resection of bladder tumour specimen is a surrogate marker of resection quality, predicts risk of early recurrence, and is dependent on operator experience / P. Mariappan [et al.] // Eur. Urol. – 2010. – Vol. 57, N 5. – P. 843–849.

17. The presence of detrusor muscle in the pathological specimen after transurethral resection of primary pT1 bladder tumors and its relationship to operator experience / M. Rouprêt [et al.] // Can. J. Urol. – 2012. – Vol. 19, N 5. – P. 6459–6464.

18. Jancke, G. Impact of surgical experience on recurrence and progression after transurethral resection of bladder tumour in non-muscle-invasive bladder cancer / G. Jancke, J. Rosell, S. Jahnson // Scand. J. Urol. – 2014. – Vol. 48, N 3. – P. 276–283.

19. Presence of detrusor muscle in bladder tumor specimens-predictors and effect on outcome as a measure of resection quality / O. Shoshany [et al.] // Urol. Oncol. – 2014. – Vol. 32, N 1. – P. 40.e17–22.

20. Long-term efficacy results of EORTC genito-urinary group randomized phase 3 study 30911 comparing intravesical instillations of epirubicin, bacillus Calmette-Guérin, and bacillus Calmette-Guérin plus isoniazid inpatients with intermediate- and high-risk stage Ta T1 urothelial carcinoma of the bladder / R. J. Sylvester [et al.] // Eur. Urol. – 2010. – Vol. 57, N 5. – P. 766–773.

21. Bacillus Calmette-Guérin is superior to a combination of epirubicin and interferon-alpha2b in the intravesical treatment of patients with stage T1 urinary bladder cancer. A prospective, randomized, Nordic study / M. Duchek [et al.] // Eur. Urol. – 2010. – Vol. 57, N 1. – P. 25–31.

22. Shelley, M. D. Intravesical therapy for superficial bladder cancer: a systematic review of randomised trials and meta-analyses / M. D. Shelley, M. D. Mason, H. Kynaston // Cancer Treat. Rev. – 2010. – Vol. 36, N 3. – P. 195–205.

23. An individual patient data meta-analysis of the long-term outcome of randomised studies comparing intravesical mitomycin C versus bacillus Calmette-Guérin for non-muscle-invasive bladder cancer / P.-U. Malmström [et al.] // Eur. Urol. – 2009. – Vol. 56, N 2. – P. 247–256.

24. Effect of routine repeat transurethral resection for superficial bladder cancer: a long-term observational study / M. O. Grimm [et al.] // J. Urol. – 2003. – Vol. 170 (2 Pt 1). – P. 433–437.

25. The effect of repeat transurethral resection on recurrence and progression rates in patients with T1 tumors of the bladder who received intravesical mitomycin: a prospective, randomized clinical trial / R. T. Divrik [et al.] // J. Urol. – 2006. – Vol. 175, N 5. – P. 1641–1644.

26. The effect of restaging transurethral resection on recurrence and progression rates in patients with nonmuscle invasive bladder cancer treated with intravesical bacillus Calmette-Guérin / J. P. Sfakianos [et al.] // J. Urol. – 2014. – Vol. 191, N 2. – P. 341–345.

References

1. Burger, M., Catto, J. W., Dalbagni, G., Grossman, H. B., Herr, H., Karakiewicz, P., Kassouf, W., Kiemeney, L. A., La Vecchia, C., Shariat, S. and Lotan, Y. (2013) "Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer", *European Urology*, vol. 63, no. 2, pp. 234-241.

2. Van Rhijn, B. W., Burger, M., Lotan, Y., Solsona, E., Stief, C. G., Sylvester, R. J., Witjes, J. A. and Zlotta, A. R. (2009) "Recurrence and progression of disease in non-muscle-invasive bladder cancer: from epidemiology to treatment strategy", *European Urology*, vol. 56, no. 3, pp. 430-442.

3. Falke, J. and Witjes, J. A. (2011) "Contemporary management of low-risk bladder cancer", *Nature Reviews Urology*, vol. 8, no. 1, pp. 42-49.

4. Gontero, P., Bohle, A., Malmstrom, P. U., O'Donnell, M. A., Oderda, M., Sylvester, R. and Witjes, F. (2010) "The role of bacillus Calmette-Guérin in the treatment of non-muscle-invasive bladder cancer", *European Urology*, vol. 57, no. 3, pp. 410-429.

5. Richards, K. A., Smith, N. D. and Steinberg, G. D. (2014) "The importance of transurethral resection of bladder tumor in the management of nonmuscle invasive bladder cancer: a systematic review of novel technologies", *Journal of Urology*, vol. 191, no. 6, pp. 1655-1664.

6. Herr, H. W. (2015) "Role of Repeat Resection in Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer", *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, vol. 13, no. 8, pp. 1041-1046.

7. Sylvester, R. J., van der Meijden, A. P., Oosterlinck, W., Witjes, J. A., Bouffioux, C., Denis, L., Newling, D. W. and Kurth, K. (2006) "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", *European Urology*, vol. 49, no. 3, pp. 466-465.

8. Sylvester, R. J., Oosterlinck, W., Holmang, S., Sydes, M. R., Birtle, A., Gudjonsson, S., De Nunzio, C., Okamura, K., Kaasinen, E., Solsona, E., Ali-El-Dein, B., Tatar, C. A., Inman, B. A., N'Dow, J., Oddens, J. R. and Babjuk, M. (2016) "Systematic Review and Individual Patient Data Meta-analysis of Randomized Trials Comparing a Single Immediate Instillation of Chemotherapy After Transurethral Resection with Transurethral Resection Alone in Patients with Stage pTa-pT1 Urothelial Carcinoma of the Bladder: Which Patients Benefit from the Instillation?", *European Urology*, vol. 69, no. 2, pp. 231-244.

9. Ho, P. L., Williams, S. B. and Kamat, A. M. (2015) "Immune therapies in non-muscle invasive bladder cancer", *Current treatment options in oncology*, vol. 16, no. 2, p. 5.

10. Rolevich, A. I., Minich, A., Nabebina, T., Polyakov, S., Krasny, S. and Sukonko, O. (2016) "Surgeon has a major impact on long-term recurrence risk in patients with non-muscle invasive bladder cancer", *Central European Journal of Urology*, vol. 69, pp. 170-177.

11. Rolevich, A. I. and Mirilenko, L. V. "Evaluation of recurrence and progression risk in non-muscle invasive bladder cancer", *Onkourologiya* [Oncourology], 2016 , no. 4.

12. Babjuk, M., Burger, M., Zigeuner, R., Shariat, S. F., van Rhijn, B. W., Compérat, E., Sylvester, R. J., Kaasinen, E., Böhle, A., Palou Redorta, J. and Rouprêt, M. (2013) "European Association of Urology. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: update 2013", *European Urology*, vol. 64, no. 4, pp. 639-653.

13. Burger, M., Oosterlinck, W., Konety, B., Chang, S., Gudjonsson, S., Pruthi, R., Soloway, M., Solsona, E., Sved, P., Babjuk, M., Brausi, M. A., Cheng, C., Comperat, E., Dinney, C., Otto, W., Shah, J., Thürof, J. and Witjes, J. A. (2013) "ICUD-EAU International Consultation on Bladder Cancer 2012: non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder", *European Urology*, vol. 63, no. 1, pp. 36-44.

14. Chang, S. S., Boorjian, S. A., Chou, R., Clark, P. E., Daneshmand, S., Konety, B. R., Pruthi, R., Quale, D. Z., Ritch, C. R., Seigne, J. D., Skinner, E. C., Smith, N. D. and McKiernan, J. M. (2016) "Diagnosis and Treatment of Non-Muscle Invasive Bladder Cancer: AUA/SUO Guideline", *Journal of Urology*, vol. 196, no. 4, pp. 1021-1029.

15. Tan, W. S., Rodney, S., Lamb, B., Feneley, M. and Kelly, J. (2016) "Management of non-muscle invasive bladder cancer: a comprehensive analysis of guidelines from the United States, Europe and Asia", *Cancer Treatment Reviews*, vol. 47, pp. 22-31.

16. Mariappan, P., Zachou, A. and Grigor, K. M. (2010) "Edinburgh Uro-Oncology Group. Detrusor muscle in the first, apparently complete transurethral resection of bladder tumour specimen is a surrogate marker of resection quality, predicts risk of early recurrence, and is dependent on operator experience", *European Urology*, vol. 57, no. 5, pp. 843-849.

17. Rouprêt, M., Yates, D. R., Varinot, J., Phé, V., Chartier-Kastler, E., Bitker, M. O. and Compérat, E. (2012) "The presence of detrusor muscle in the pathological specimen after transurethral resection of primary pT1 bladder tumors and its relationship to operator experience", *Canadian Journal of Urology*, vol. 19, no. 5, pp. 6459-6464.

18. Jancke, G., Rosell, J. and Jahnson, S. (2014) "Impact of surgical experience on recurrence and progression after transurethral resection of bladder tumour in non-muscle-invasive bladder cancer", *Scandinavian Journal of Urology*, vol. 48, no. 3, pp. 276-283.

19. Shoshany, O., Mano, R., Margel, D., Baniel, J. and Yossepowitch, O. (2014) "Presence of detrusor muscle in bladder tumor specimens-predictors and effect on outcome as a measure of resection quality", *Urologic Oncology*, vol. 32, no. 1, pp. 40.e17-22.

20. Sylvester, R. J., Brausi, M. A., Kirkels, W. J., Hoeltl, W., Calais Da Silva, F., Powell, P. H., Prescott, S., Kirkali, Z., van de Beek, C., Gorlia, T. and de Reijke, T. M. (2010) "EORTC Genito-Urinary Tract Cancer Group. Long-term efficacy results of EORTC genito-urinary group randomized phase 3 study 30911 comparing intravesical instillations of epirubicin, bacillus Calmette-Guérin, and bacillus Calmette-Guérin plus isoniazid in patients with intermediate- and high-risk stage Ta T1 urothelial carcinoma of the bladder", *European Urology*, vol. 57, no. 5, pp. 766-773.

21. Duchek, M., Johansson, R., Jahnson, S., Mestad, O., Hellström, P., Hellsten, S. and Malmström, P. U. (2010) "Members of the Urothelial Cancer Group of the Nordic Association of Urology. Bacillus Calmette-Guérin is superior to a combination of epirubicin and interferon-alpha2b in the intravesical treatment of patients with stage T1 urinary bladder cancer. A prospective, randomized, Nordic study", *European Urology*, 2010, vol. 57, no. 1, pp. 25-31.

22. Shelley, M. D., Mason, M. D. and Kynaston, H. (2010) "Intravesical therapy for superficial bladder cancer: a systematic review of randomised trials and meta-analyses", *Cancer Treatment Reviews*, vol. 36, no. 3, pp. 195-205.

23. Malmström, P.-U., Sylvester, R. J., Crawford, D. E., Friedrich, M., Krege, S., Rintala, E., Solsona, E., Di Stasi, S. M. and Witjes, J. A. (2009) "An individual patient data meta-analysis of the long-term outcome of randomised studies comparing intravesical mitomycin C versus bacillus Calmette-Guérin for non-muscle-invasive bladder cancer", *European Urology*, vol. 56, no. 2, pp. 247-256.

24. Grimm, M. O., Steinhoff, C., Simon, X., Spiegelhalder, P., Ackermann, R. and Vogeli, T. A. (2003) "Effect of routine repeat transurethral resection for superficial bladder cancer: a long-term observational study", *Journal of Urology*, vol. 170 (2 Pt 1), pp. 433-437.

25. Divrik, R. T., Yildirim, U., Zorlu, F. and Ozen, H. (2006) "The effect of repeat transurethral resection on recurrence and progression rates in patients with T1 tumors of the bladder who received intravesical mitomycin: a prospective, randomized clinical trial", *Journal of Urology*, vol. 175, no. 5, pp. 1641-1644.

26. Sfakianos, J. P., Kim, P. H., Hakimi, A. A. and Herr, H. W. (2014) "The effect of restaging transurethral resection on recurrence and progression rates in patients with nonmuscle invasive bladder cancer treated with intravesical bacillus Calmette-Guérin", *Journal of Urology*, vol. 191, no. 2, pp. 341-345.

Информация об авторах

Ролевич Александр Игоревич – вед. науч. сотрудник лаборатории онкоурологической патологии хирургического отдела. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, Минский р-н, агр. Лесной, Республика Беларусь). E-mail: alexander.rolevich@gmail.com

Для цитирования

Ролевич, А. И. Безрецидивная выживаемость при раке мочевого пузыря без мышечной инвазии / А. И. Ролевич // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – № 4. – С. 44–56.

Information about the authors

Rolevich Alexander Igorevich – Leading Research of the Laboratory of Oncourology, Department of Surgery. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Minsk region, Lesnoy, Republic of Belarus). E-mail: alexander.rolevich@gmail.com

For citation

Rolevich A. I. Recurrence-free survival in patients with non-muscle bladder cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series*, 2016, no. 4, pp. 44–56.

ISSN 1814-6023 (print)
УДК 616.36-003.93:[612.35:612.6.03]

Поступила в редакцию 14.07.2016
Received 14.07.2016

А. Г. Скуратов[1], А. Н. Лызиков[1], Д. А. Зиновкин[1], И. А. Чешик[2], Д. Р. Петренев[2]

Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Республика Беларусь
[2]Институт радиобиологии НАН Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ЧАСТИЧНОЙ ГЕПАТЭКТОМИИ И ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Исследованы морфологические показатели регенерации печени на экспериментальной модели резекции органа как у здоровых животных, так и у животных с токсическим поражением печени ретрорсином, а также влияние трансплантации мезенхимальных стволовых клеток на регенеративные процессы в печени.

Выявлено, что в механизмах регенерации здоровой печени после резекции участвуют в основном зрелые гепатоциты (их митотическая активность усилена, а ядерный аппарат клеток увеличен). При резекции печени на фоне ретрорсин-индуцированного поражения процессы регенерации резко ослаблены. После интрапортального введения мезенхимальных стволовых клеток при резекции печени наблюдается усиление регенеративных процессов как в здоровом органе, так и при ретрорсин-индуцированном его поражении.

Ключевые слова: резекция печени, экспериментальная модель, регенерация, ретрорсин, мезенхимальные стволовые клетки, трансплантация.

A. G. Skuratov[1], A. N. Lyzikov[1], D. A. Zinovkin[1], I. A. Cheshik[2], D. R. Petrenyov[2]

[1]Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus
[2]Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus

MORPHOMETRIC PARAMETERS OF LIVER REGENERATION IN CASE OF PARTIAL HEPATECTOMY AND MESENCHYMAL STEM CELLS TRANSPLANTATION IN EXPERIMENT

Morphological figures of liver regeneration on the experimental model of organ resection of healthy animals and rats treated with retrorsine, as well as the influence of the transplantation of mesenchymal stem cells on the regenerative processes in liver are investigated.

It was revealed that the mechanism of regeneration of healthy liver after resection mainly involved mature hepatocytes with strengthening their mitotic activity and with increasing the nuclear apparatus. During the liver resection on the background of the retrorsin-induced injury the regeneration processes was greatly weakened. Intraportal transplantation of mesenchymal stem cells in liver resection contributed to improving the regenerative processes both in the healthy liver and in the case of the retrorsin-induced injury of the liver.

Keywords: liver resection, experimental model, regeneration, retrorsine, mesenchymal stem cells transplantation.

Введение. Печень является единственным внутренним органом у млекопитающих, который, обладая уникальной способностью к самообновлению, практически полностью восстанавливается после травмы [1, 2]. Дефицит ткани печени восполняется даже после обширных потерь до 75 % массы органа. Эту особенность используют в хирургии для безопасного и эффективного удаления резектабельных опухолей и кист печени, а также при парциальной трансплантации печени от живых доноров [3, 4].

В последние годы вопросы регенерации печени оказались в центре внимания систематических научных исследований в связи с определенными достижениями в области клеточных биотехнологий, в частности в изучении стволовых клеток [5–7]. В эксперименте модель резекции печени в различных вариантах до сих пор широко используется для исследования регенерации печени и разработки новых методов лечения печеночной недостаточности. Резекция печени у грызунов выполняется достаточно просто, при этом выживаемость животных высокая [8, 9].

Уникальная способность мезенхимальных стволовых клеток (МСК) к дифференцировке не только в мезодермальные клеточные линии (остеобласты, хондробласты, адипоциты, миоциты и кардиомоциты), но и в немезодермальные клетки, в том числе гепатоциты, вызвала интерес во

всем мире [9–11], что способствовало активному изучению влияния МСК на регенерацию печени при ее повреждении [12].

Цель работы – исследовать регенерацию печени на хирургической модели резекции органа здоровых животных и при ретрорсин-индуцированном поражении печени и оценить репаративный эффект трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в эксперименте.

Материалы и методы исследования. Крысы самцы линии Wistar массой 250–300 г были разделены на 4 группы, по 10 животных в каждой:

группа 1 – здоровые крысы, которым выполнялась резекция 2/3 печени;

группа 2 – здоровые крысы, которым выполнялась резекция 2/3 печени с одномоментной интрапортальной трансплантацией МСК;

группа 3 – крысы с ретрорсин-индуцированным поражением печени, которым выполнялась резекция 2/3 печени;

группа 4 – крысы с ретрорсин-индуцированным поражении печени, которым выполнялась резекция 2/3 печени с одномоментной интрапортальной трансплантацией МСК.

Экспериментальная модель резекции печени. После лапаротомии передние доли (большую медиальную и левую боковую) печени крыс, составляющие примерно 65 % от массы печени (т. е. 2/3), лигировали в воротах и резецировали с последующим гистологическим исследованием. Выполняли контроль гемостаза. Рану брюшной стенки ушивали наглухо. Для изучения морфометрических показателей регенерации печени через 14 сут животных выводили из эксперимента путем передозировки галотана. Экстирпированную печень оценивали макро- и микроскопически. Орган фиксировали в 10 %-ном растворе забуфференного формалина в течение 24–36 ч. Затем производили гистологическую вырезку патологоанатомических препаратов и помещали их в гистологические кассеты. Для проводки материала использовали тканевой процессор Microm STP-120 (Thermo Scientific, Германия) согласно протоколу. Затем исследуемый материал заливали в парафиновые блоки. На роторном микротоме Microm HM 304 E (Thermo Scientific, Германия) из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 3–4 мкм, которые в дальнейшем монтировали на предметные несиланизированные стекла («Минимед», Россия). В дальнейшем производили окраску гематоксилином и эозином по стандартной методике. Полученные гистологические препараты заключали под покровные стекла с использованием монтирующей среды Biomount (Bio optica, Испания). Микропрепараты фотографировали с помощью микроскопа NiconEclipse 50i с цифровой фотокамерой DS-F1 с разрешением 1689×1415 пикселей в 6 полях зрения. Подсчет производили с помощью пакета прикладных программ анализа изображения. Все измерения производили при 400-кратном увеличении, площадь первого поля зрения составила 118947,07 (299,11×397,67) мкм^2.

Морфометрически оценивали (при 400-кратном увеличении) показатели пролиферации гепатоцитов: диаметр и площадь ядра, площадь цитоплазмы, ядерно-цитоплазматический индекс (ЯЦИ), количество двухъядерных клеток, ядрышек в ядре и митозов на 10 полей зрения.

Ретрорсин-индуцированное поражение печени. Гепатотропный алкалоид ретрорсин вызывает токсическое поражение печени, блокирует деление гепатоцитов между фазами S и G2 клеточного цикла. Клетки остаются заблокированными после синтеза ДНК и до фазы разделения «М». Для приготовления раствора ретрорсин (Retrorsine RS, Sigma, Франция) в виде порошка растворяли в 10 мл стерильной воды и HCl (pH 2,5), затем нейтрализовали раствором NaOH (0,1 N) до pH 7 и добавляли 0,15 моль/л NaCl. С промежутком в 2 недели дважды внутрибрюшинно вводили конечный раствор ретрорсина (6 мг/мл) в дозе 30 мг/кг массы тела животного. Резекцию печени выполняли через 4 недели после второй инъекции препарата [13].

Выделение и культивирование МСК. МСК выделяли из жировой ткани паховой области животных по стандартной методике протокола и затем культивировали в CO_2-инкубаторе [14]. Для экспериментов использовали МСК второго–третьего пассажей. МСК типировали по характерной морфологии и по экспрессии маркерных генов (*CD90*, *CD29*, *CD44*, *CD45* и др.). Для трансплантации лабораторным животным МСК ресуспендировали в D-PBS и вводили пункционно атравматичной (Pencil point) спинальной иглой G26 в воротную вену в концентрации $3 \cdot 10^6$ кле-

ток/мл. Объем суспензии вводимых стволовых клеток составил 2 мл/кг массы тела животного (0,5–0,6 мл на 1 крысу), скорость введения – 0,1 мл/с.

С целью треккинга в ближайшем посттрансплантационном периоде МСК прижизненно окрашивали с помощью флуоресцентных красителей CM-Dil по адаптированной к нашей лаборатории методике. Степень окрашивания МСК оценивали методом проточной цитометрии (прибор FC-500 Beckman Coulter, США). Для контраста дополнительно производили окраску ядер клеток красителем Dapi. Флуоресцентную мискроскопию криопрепаратов печени, экстирпированной на 7-е сутки после интрапортального введения МСК животным с токсическим поражением печени, проводили на микроскопе NIKON Eclipse E200.

Статистические методы исследования. Статистический анализ данных проводили при помощи пакета Statistica 10 (StatSoft). Проверку соответствия распределения количественных данных закону нормального распределения выполняли с помощью критерия Шапиро–Уилка (*W*-критерий). Количественные данные, распределение которых не являлось нормальным, описывали с помощью медианы, 25-го и 75-го процентилей. Для сравнения двух выборок количественных признаков использовали *U*-тест Манна–Уитни. Статистически значимым считали результат, если вероятность отвергнуть нулевую гипотезу об отсутствии различий не превышала 5 % ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. При окрашивании МСК красителем CM-Dil в клетках индуцировалось свечение в красном спектре. Ядра были мечены красителем Dapi (контрастированы синим цветом). Через 7 сут после интрапортального введения меченых МСК при проведении флуоресцентной микроскопии криопрепаратов печени выявлены очаги специфической флуоресценции, инкорпорированные преимущественно в перипортальных зонах печеночных долек (рис. 1).

Исследование регенерации печени после резекции (группа 1). Резецированные доли печени (0-е сутки эксперимента) имели правильную гистоархитектонику, четко дифференцировались печеночные дольки с центральным расположением центральных вен. Сосуды и желчные протоки триад не имели патологических изменений (рис. 2).

На 14-е сутки после резекции масса печени восстановилась за счет гипертрофии оставшейся доли органа. До резекции она составляла 12,2 (11,8; 12,7) г, через 14 сут – 12,0 (11,7; 12,5) г; $p < 0,05$. При обзорной микроскопии отмечались новообразованные дольки с пролиферирующими гепатоцитами, желчными протоками и сосудами. В цитоплазме гепатоцитов наблюдалась выраженная зернистая пылевидная дистрофия (признак функционального напряжения органа). Определялись пролиферирующие гепатоциты, диффузная инфильтрация единичными гистиоцитами и мелкими лимфоцитами, полнокровие синусов, увеличенные в размерах ядра гепатоцитов, ядрышки (от 1 до 3), митозы и двухъядерные гепатоциты (рис. 3).

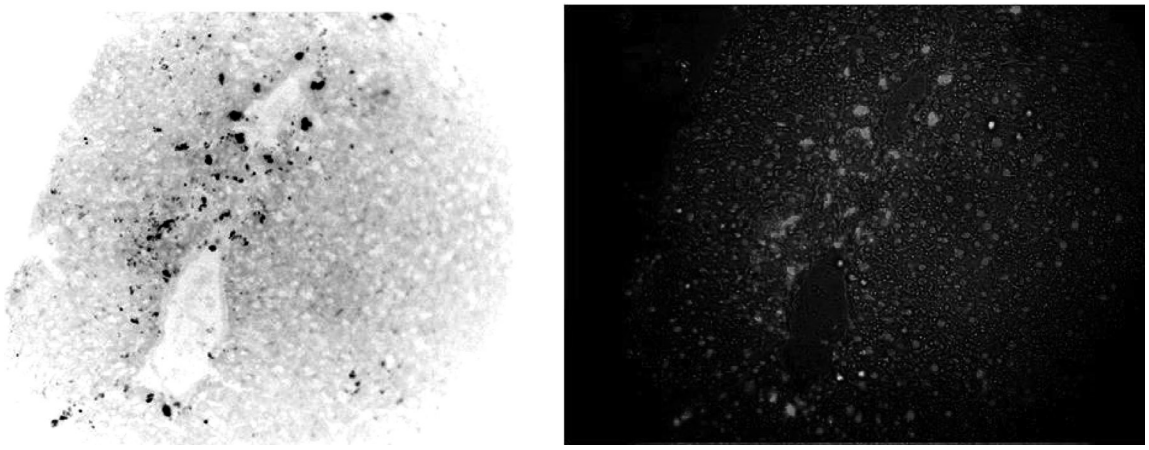


Рис. 1. Флуоресцентная микроскопия печени: слева – инвертированная (черные вкрапления – меченые МСК); справа – совмещенные слои микрофотографий в красном, зеленом, синем спектрах (светлые элементы – меченые МСК). ×200

Fig. 1. Fluorescence microscopy of the liver: on the left – inverted (black inclusions – labeled MSC), right – aligned layers of micro photos in red, green, and blue spectra (bright elements – labeled MSC). ×200

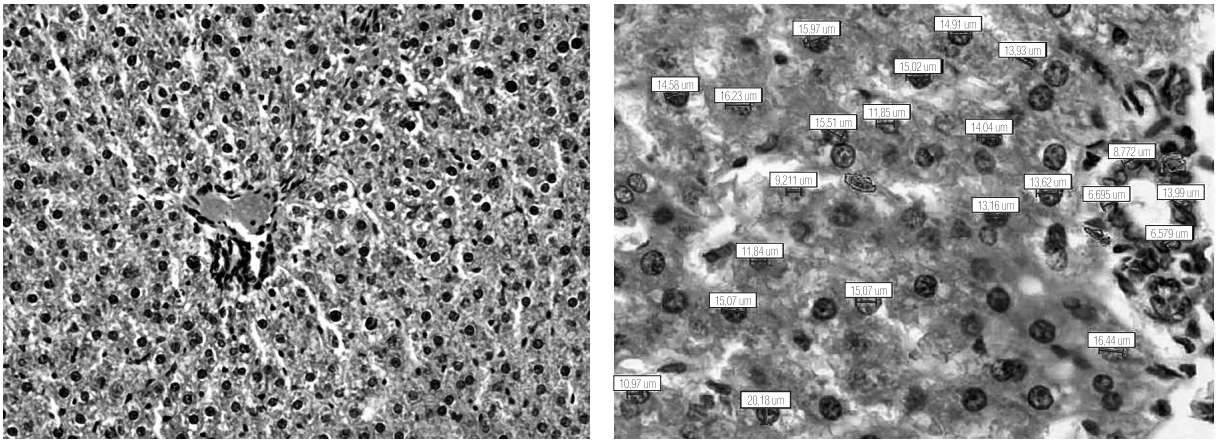


Рис. 2. Резецированная доля печени (0-е сутки), портальный тракт (слева ×200, справа ×400). Измерение диаметра ядер гепатоцитов. Окраска гематоксилин-эозином

Fig. 2. Resected lobe of the liver (0th day), the portal tract (on the left ×200, on the right ×400). Measurement of the nucleus diameter of hepatocytes. Hematoxylin-eosin stain

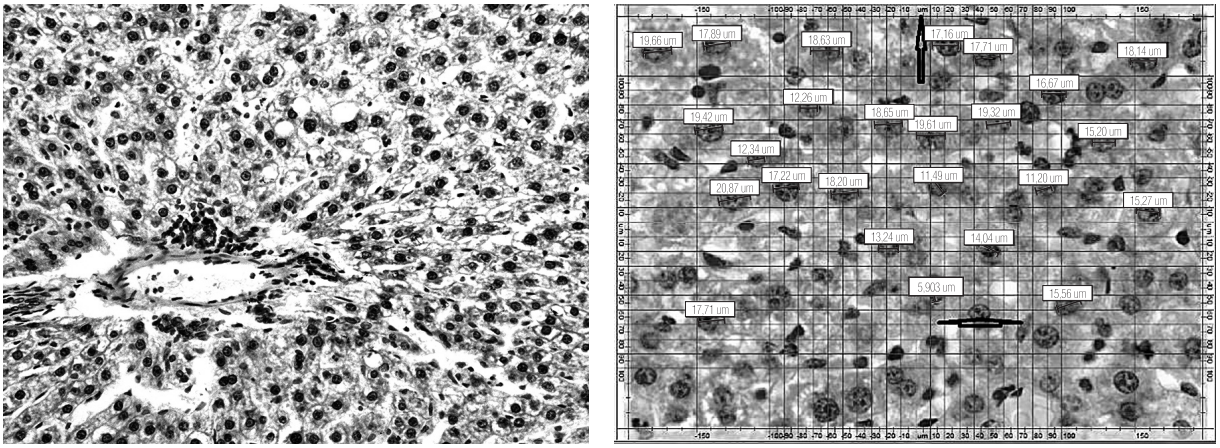


Рис. 3. Микроскопия печени животных группы 1 (14-е сутки), портальный тракт (слева ×200, справа ×400). Измерение диаметра ядер гепатоцитов. Окраска гематоксилин-эозином

Fig. 3. Microscopy of the liver of the animals of group 1 (14 th day), the portal tract (on the left ×200, right ×400). Measurement of the nucleus diameter of hepatocytes. Hematoxylin-eosin stain

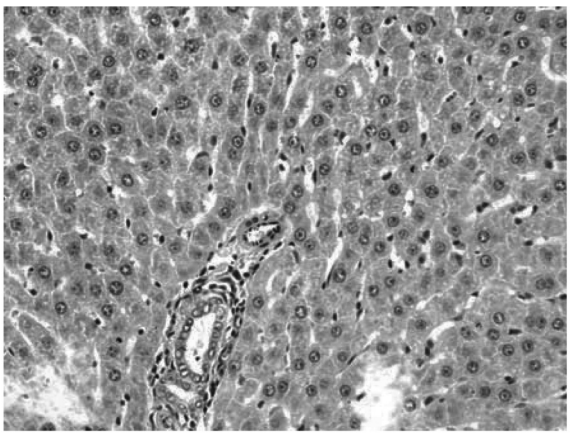


Рис. 4. Микроскопия печени животных группы 2 (14-е сутки): увеличение ядер в размерах, выраженная пылевидная дистрофия гепатоцитов. Окраска гематоксилин-эозином. ×200

Fig. 4. Microscopy of the liver of the animals of group 2 (14 th day): the increase in the size of nuclei, the expressed dusk-like dystrophy of hepatocytes. Hematoxylin-eosin stain. ×200

Резекция печени с трансплантацией МСК (группа 2). На 14-е сутки после резекции с одномоментной интрапортальной трансплантацией МСК в печени отмечалась пролиферация гепатоцитов, желчных протоков и сосудов. Определялись увеличенные в размерах ядра гепатоцитов, ядрышки (от 1 до 4), митозы (1–2) в 10 полях зрения и двухъядерные клетки (рис. 4).

Сводные количественные данные морфометрических показателей ткани печени животных групп 1 и 2 представлены в табл. 1, статистический анализ данных – в табл. 2.

Таблица 1. **Морфометрические показатели ткани печени животных групп 1 и 2**

Показатель	Группа 1		Группа 2	
	0-е сутки	14-е сутки	0-е сутки	14-е сутки
Диаметр ядра, мкм	15,5 (13,3–16,2)	18,2 (13,7–19,4)	16,1 (19,2–25,3)	22,5 (18,7–25,3)
Площадь ядра, мкм^2	242,1 (168,4–289,1)	287,6 (189,4–323,3)	255 (221,2–267,7)	483,5 (419,6–501,2)
Площадь цитоплазмы, мкм^2	2095,1 (1889,4–2154,2)	2134,5 (1903,5–2345,2)	2032,3 (1843,5–2436,6)	2381,1 (1834,3–2453,7)
Ядерно-цитоплазматический индекс	0,116	0,135	0,125	0,203
Двухъядерные клетки	0	2	0	2,2
Ядрышки	1,2 (1,0–1,7)	1,9 (1,0–2,3)	1,3 (1,0–1,7)	2,1 (1,3–2,3)
Митозы	0	1	0	2

Таблица 2. **Статистический анализ морфометрических показателей печени животных групп 1 и 2 на 14-е сутки после резекции (критерий Манна–Уитни)**

Показатель	*Z*	*p*
Диаметр ядра, мкм	3,860	0,0001
Площадь ядра, мкм^2	3,618	0,0001
Площадь цитоплазмы, мкм^2	3,221	0,0001
Ядерно-цитоплазматический индекс	3,527	0,0001
Двухъядерные клетки	3,899	0,0001
Ядрышки	3,111	0,0001
Митозы	3,765	0,0001

Как видно из данных табл. 1 и 2, выявлены статистически значимые различия в морфометрических показателях регенерации печени у животных групп 1 и 2. По-видимому, трансплантация МСК способствовала усилению выраженности пролиферативных процессов в печени после резекции как на клеточном, так и на тканевом уровне.

Исследование регенерации печени после резекции на фоне ретрорсин-индуцированного поражения (группа 3). При введении крысам ретрорсина наблюдалась картина токсического поражения и жировой дистрофии печени. Клеточная пролиферативная и инфильтративная реакция были незначительными, наблюдалась слабо выраженная лимфоидная инфильтрация портальных трактов. Отмечалось уменьшение числа клеток в одном поле зрения и увеличение размера гепатоцитов. Резецированные доли печени (0-е сутки) имели правильную гистоархитектонику, четко дифференцировались печеночные дольки с центральным расположением центральных вен. В гепатоцитах определялись дистрофические изменения умеренной степени выраженности.

На 14-е сутки после резекции процессы регенерации были ослаблены по сравнению с таковыми в здоровой печени. Выявлялись отдельные гепатоциты с эозинофильной цитоплазмой и кариорексисом. Ядра гепатоцитов слабо увеличены в размерах, ядрышки – единичные. Отмечались крупно- и мелкокапельная дистрофия гепатоцитов, преимущественно по периферии печеночных долек, зернистая дистрофия гепатоцитов как признак функционального напряжения органа, единичные пролиферирующие гепатоциты с 1–2 крупными ядрышками, а также слабо выраженные некробиотические изменения, венозное полнокровие сосудов стромы (рис. 5).

Резекция печени на фоне ретрорсин-индуцированного поражения с трансплантацией МСК (группа 4). Через 14 сут после резекции и трансплантации МСК печень восстановила свой объем и массу. При этом масса печени статистически значимо больше, чем в случае резекции без введения МСК: 11,7 (11,2; 12,5) г и 8,1 (7,8; 8,6) г соответственно, $p > 0{,}05$. Паренхима печени темно-коричневого цвета, с хорошо выявляемой, характерной для данного органа зернистостью. Внутри- и внепеченочные желчные протоки не расширены, проходимы. Микроскопически доли печени имели правильную гистоархитектонику, четко дифференцировались печеночные дольки с центральным расположением центральных вен. Отмечалось повышение митотической активности гепатоцитов. Наличие пылевидных включений в цитоплазме свидетельствовало о функциональной напряженности органа. Сосуды и желчные протоки триад не имели патологических изменений. В единичных гепатоцитах определялись дистрофические изменения слабой степени выраженности или эозинофильная цитоплазма и кариорексис. Ядра гепатоцитов крупные, с хорошо определяемым хроматином, ядрышками. Микроскопически в перипортальной зоне выявлены

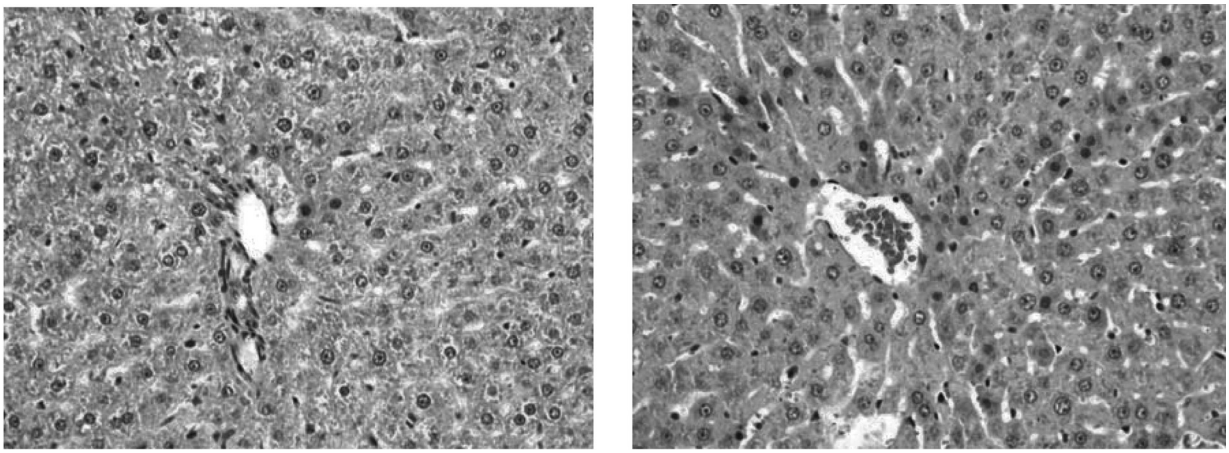


Рис. 5. Микроскопия печени животных группы 3: слева – резецированная доля печени (0-е сутки) с дистрофическими изменениями гепатоцитов, справа – единичные гепатоциты с кариорексисом и эозинофильной цитоплазмой (14-е сутки). Окраска гематоксилин-эозином. ×200

Fig. 5. Microscopy of the liver of the animals of group 3: on the left – resected lobe of the liver (0^{th} day) with the dystrophic changes in hepatocytes, on the right – single hepatocytes with karyorhexis and eosinophyl cytoplasma (14^{th} day). Hematoxylin-eosin stain. ×200

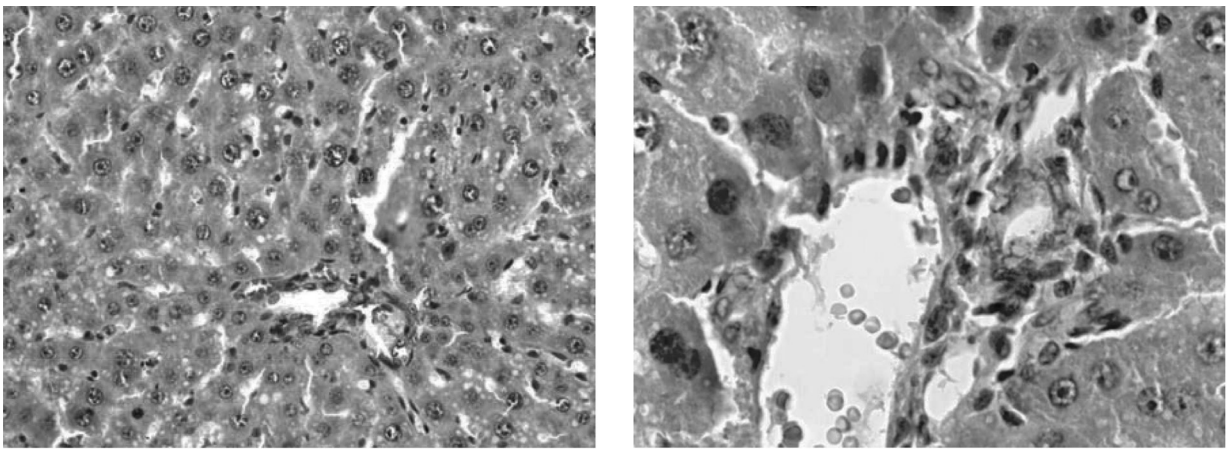


Рис. 6. Микроскопия печени животных группы 4 (14-е сутки): гепатоциты с крупными ядрами и хорошо дифференцируемым хроматином, пролиферация гепатоцитов и эпителия желчных протоков (слева ×200, справа ×400). Окраска гематоксилин-эозином

Fig. 6. Microscopy of the liver of the animals of group 4 (14th day): hepatocytes with large nuclei and well differentiable chromatin, the proliferation of hepatocytes and epitheselium of the bile ducts (on the left ×200, on the right ×400). Hematoxylin-eosin stain

пролиферирующие гепатоциты с реактивной атипией ядер (за счет увеличения ядерного компонента в ядерно-цитоплазматическом соотношении), а также конденсации хроматина, преимущественно по периферии сосудов венозного русла. Выявлялись двухъядерные гепатоциты, 1–4 ядрышка. Желчные протоки – с пролиферацией эпителия (рис. 6).

Сводные количественные данные морфометрических показателей ткани печени животных групп 3 и 4 представлены в табл. 3, статистический анализ данных – в табл. 4.

Таблица 3. **Морфометрические показатели ткани печени животных групп 3 и 4**

Показатель	Группа 3		Группа 4	
	0-е сутки	14-е сутки	0-е сутки	14-е сутки
Диаметр ядра, мкм	18,7 (13,3–16,1)	21,8 (19,2–24,5)	18,5 (13,3–19,2)	25,1 (18,8–26,8)
Площадь ядра, мкм^2	356,9 (243,4–224,1)	472,7 (423,3–497,6)	345,1 (268,4–389,1)	522,7 (442,3–686,2)
Площадь цитоплазмы, мкм^2	2121,1 (1769,4–2254,2)	2124,2 (1657,5–2101,2)	2195,1 (1889,4–2354,2)	2064 (1547,1–2125,3)
Ядерно-цитоплазматический индекс	0,168	0,222	0,157	0,253
Двухъядерные клетки	0,5	1,5	0,7	2,0
Ядрышки	1,5 (1,4–2,2)	1,7 (1,3–2,2)	1,8 (1,0–2,1)	1,9 (1,3–2,3)
Митозы	0	0	1	1

Таблица 4. **Статистический анализ морфометрических показателей печени животных групп 3 и 4 на 14-е сутки после резекции (критерий Манна–Уитни)**

Показатель	*Z*	*p*
Диаметр ядра, мкм	3,576	0,00053
Площадь ядра, мкм^2	3,645	0,00047
Площадь цитоплазмы, мкм^2	1,873	0,00243
Ядерно-цитоплазматический индекс	3,5554	0,0003
Двухъядерные клетки	3,865	0,0001
Ядрышки	3,656	0,0001
Митозы	3,754	0,00055

При сравнении морфометрических критериев гепатоцитов животных групп 3 и 4 на 14-е сутки после резекции отмечались статистически значимые различия морфометрических показателей.

Вероятно, интрапортальное введение аутологичных МСК животным этих групп позволило активизировать механизмы клеточной и внутриклеточной регенерации печени по сравнению с таковыми у контрольных животных.

Заключение. На экспериментальной модели резекции печени показана регенерация органа, в механизмах которой участвуют в основном зрелые гепатоциты (митотическая активность их усилена, а ядерный аппарат клеток увеличен). При ретрорсин-индуцированном поражении печени отмечалось угнетение митотической активности гепатоцитов, а собственные механизмы регенерации оказались несостоятельными для восстановления нормальной морфологической структуры органа. Репаративный рост печени был резко ослаблен и осуществлялся не столько за счет митотических делений клеток паренхимы и их полиплоидизации, сколько вследствие гипертрофии гепатоцитов. На фоне интрапортальной трансплантации аутологичных МСК наблюдалась активизация механизмов клеточной и внутриклеточной регенерации печени по сравнению с таковыми у контрольных животных.

Список использованных источников

1. Гарбузенко, Д. В. Механизмы компенсации структуры и функции печени при ее повреждении и их практическое значение / Д. В. Гарбузенко // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2008. – Т. 8, № 6. – С. 14–21.

2. Лызиков, А. Н. Механизмы регенерации печени в норме и при патологии / А. Н. Лызиков, А. Г. Скуратов, Б. Б. Осипов // Проблемы здоровья и экологии. – 2015. – № 1 (43). – С. 4–9.

3. Liver regeneration – the best kept secret. A model of tissue injury response / J. A. Cienfuegos [et al.] // Rev. Esp. Enferm. Dig. – 2014. – Vol. 106 (3). – P. 171–194.

4. Fausto, N. Liver regeneration / N. Fausto, J. S. Campbell, K. J. Riehle // Hepatology. – 2006. – Vol. 43, N 1. – P. 45–53.

5. Кирик, В. М. Стволовые клетки из жировой ткани: основные характеристики и перспективы клинического применения в регенеративной медицине / В. М. Кирик, Г. М. Бутенко // Журн. АМН України. – 2010. – Т. 16, № 4. – С. 576–604.

6. Яргин, С. В. Стволовые клетки и клеточная терапия: на подступах к научному подходу / С. В. Яргин // Цитология. – 2010. – Т. 52, № 11. – С. 918–920.

7. Liver regeneration / ed. by Dieter Häussinger. – Berlin; Boston: Walter de Gruyter GmbH & Co, 2011. – 232 p.

8. Michalopoulos, G. K. Liver regeneration after partial hepatectomy: critical analysis of mechanistic dilemmas / G. K. Michalopoulos // Am. J. Pathol. – 2010. – Vol. 176. – P. 2–13.

9. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a source of human hepatocytes / A. Banas [et al.] // Hepatology. – 2007. – Vol. 46. – P. 219–228.

10. Фенотипические изменения мезенхимальных стволовых клеток при их дифференцировке в гепатоцитарном направлении / А. Г. Скуратов [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. – 2013. – № 2 (36). – С. 134–139.

11. Скуратов, А. Г. Экспрессия маркерных генов гепатоцит-подобными клетками, дифференцированными из мезенхимальных стволовых клеток / А. Г. Скуратов, Д. Р. Петренев, А. Н. Кондрачук // Проблемы здоровья и экологии. – 2013. – № 3 (37). – С. 105–110.

12. Черных, Е. Р. Стволовые клетки в регенерации печени: новые подходы к лечению печеночной недостаточности / Е. Р. Черных, А. А. Останин, А. И. Пальцев // Гепатология. – 2004. – № 5. – С. 24–33.

13. Best, D. H. Treatment with 2-AAF Blocks the Small Hepatocyte-Like Progenitor Cell Response in Retrorsine-Exposed Rats / D. Hunter Best, William B. Coleman // J. Hepatol. 2007. – Vol. 46 (6). – P. 1055–1063.

14. A protocol for isolation and culture of mesenchymal stem cells from mouse compact bone / H. Zhu [et al.] // Nat. Protoc. – 2010. – Vol. 5 (3). – P. 550–560.

References

1. Garbuzenko, D. V. (2008) “Mechanisms of compensation structure and function of the liver when it is damaged and their practical importance”, *Rossiiskii zhurnal gastroenterologii, gepatologii i koloproktologii* [Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology and Coloproctology], vol. 8, no. 6, pp. 14-21.

2. Lyzikov, A. N., Skuratov, A. G. and Osipov, B. B. (2015) “Mechanisms of liver regeneration in normal and pathological conditions”, *Problemy zdorov’ya i ekologii* [Health and environmental problems], no. 1 (43), pp. 4-9.

3. Cienfuegos, J. A., Rotellar, F., Baixauli, J., Martínez-Regueira, F., Pardo, F. and Hernández-Lizoáin, J. L. (2014) “Liver regeneration – the best kept secret. A model of tissue injury response”, *Revista espanola de enfermedades digestivas*, vol. 106 (3), pp. 171-194.

4. Fausto, N., Campbell, J. S. and Riehle, K. J. (2006) “Liver regeneration”, *Hepatology*, vol. 43, no. 1, pp. 45-53.

5. Kirik, V. M. and Butenko, G. M. (2010) “Stem cells from adipose tissue: perspectives and basic characteristics of clinical application in regenerative medicine”, *Zhurnal Natsional’noï akademiï medichnikh nauk Ukraïni* [Journal of National Academy of Medical Sciences of Ukraine], vol. 16, no. 4, pp. 576-604.

6. Yargin, S. V. (2010) “Stem cells and cell therapy: on the outskirts of the scientific approach”, *Tsitologiya* [Cytology], vol. 52, no. 11, pp. 918-920.

7. Häussinger, D. (ed.) (2011) *Liver regeneration*, Walter de Gruyter GmbH & Co, Berlin; Boston, DE.

8. Michalopoulos, G. K. (2010) “Liver regeneration after partial hepatectomy: critical analysis of mechanistic dilemmas”, *American Journal of Pathology*, vol. 176, pp. 2-13.

9. Banas, A., Teratani, T., Yamamoto, Y., Tokuhara, M., Takeshita, F., Quinn, G., Okochi, H. and Ochiya, T. (2007) “Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a source of human hepatocytes”, *Hepatology*, vol. 46, pp. 219-228.

10. Skuratov, A. G., Petrenyov, D. R., Kondrachuk, A. N. and Voropaev, E. V. (2013) “Phenotypic changes of mesenchymal stem cells in their differentiation to hepatocyte direction”, *Problemy zdorov’ya i ekologii* [Health and environmental problems], no. 2 (36), pp. 134-139.

11. Skuratov, A. G., Petrenev, D. R. and Kondrachuk, A. N. (2013) “Expression of the marker genes hepatocyte-like cells differentiated from mesenchymal stem cells”, *Problemy zdorov’ya i ekologii* [Health and environmental problems], no. 3 (37), pp. 105-110.

12. Chernykh, E. R., Ostanin, A. A. and Pal’tsev, A. I. (2004) “Stem cells in liver regeneration, new approaches to the treatment of liver failure”, *Gepatologiya* [Hepatology], no. 5, pp. 24-33.

13. Best, D. Hunter and Coleman, B. William (2007) “Treatment with 2-AAF Blocks the Small Hepatocyte-Like Progenitor Cell Response in Retrorsine-Exposed Rats”, *Journal of Hepatology*, vol. 46 (6), pp. 1055-1063.

14. Zhu, H., Guo, Z. K., Jiang, X. X., Li H., Wang, X. Y., Yao, H. Y., Zhang, Y. and Mao, N. (2010) “A protocol for isolation and culture of mesenchymal stem cells from mouse compact bone”, *Nature Protocols*, vol. 5 (3), pp. 550-560.

Информация об авторах

Скуратов Александр Геннадьевич – канд. мед. наук, доцент кафедры хирургических болезней № 1. Гомельский государственный медицинский университет (ул. Ланге, 5, 246050, Гомель, Республика Беларусь). E-mail: alexskuratov@mail.ru

Information about the authors

Skuratov Alexander Gennad’evich – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Department of surgical diseases N 1. Gomel State Medical University (5, Lange Str., 246050, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: alexskuratov@mail.ru

Лызиков Анатолий Николаевич – д-р мед. наук, профессор, ректор Гомельского государственного медицинского университета (ул. Ланге, 5, 246050, Гомель, Республика Беларусь)

Зиновкин Дмитрий Александрович – врач-патологоанатом лаборатории клеточных технологий. Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (ул. Ильича, 290, 246040, Гомель, Республика Беларусь). E-mail: zinych007@yandex.ru

Чешик Игорь Анатольевич – канд. мед. наук, директор Института радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, Гомель, Республика Беларусь). E-mail: igor.cheshik@gmail.com

Петренев Даниил Рудольфович – ст. науч. сотрудник лаборатории эндокринологии и биохимии. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, Гомель, Республика Беларусь). E-mail: daniil.petrenyov@gmail.com

Для цитирования

Морфометрические параметры регенерации печени при частичной гепатэктомии и трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в эксперименте / А. Г. Скуратов [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – № 4. – С. 57–65.

Lyzikov Anatoly Nikolayevich – D. Sc. (Med.), Professor, Rector of Gomel State Medical University (5, Lange Str., 246050, Gomel, Republic of Belarus)

Zinovkin Dmitry Aleksandrovich – pathologist, laboratory of cell technologies. Republican Scientific Center for Radiation Medicine and Human Ecology (290, Illicha Str., 246040, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: zinych007@yandex.ru

Cheshik Igor Anatolyevich – Ph. D. (Med.), Director of the Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninskogo Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: igor.cheshik@gmail.com

Petrenyov Daniil Rudolfovich – Senior Researcher, Laboratory of Endocrinology and Biochemistry. Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninskogo Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: daniil.petrenyov@gmail.com

For citation

Skuratov A. G., Lyzikov A. N., Zinovkin D. A., Cheshik I. A., Petrenyov D. R. Morphometric parameters of liver regeneration in case of partial hepatectomy and mesenchymal stem cells transplantation in experiment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series*, 2016, no. 4, pp. 57–65.

ISSN 1814-6023 (print)
УДК 616.314.11-001.5-08:[615.849.19:615.272.2]

Поступила в редакцию 15.10.2016
Received 15.10.2016

И. К. Луцкая, И. П. Коваленко

Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

ЛЕЧЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ С НЕОСЛОЖНЕННЫМ ПЕРЕЛОМОМ КОРОНКИ ЗУБА С ПОМОЩЬЮ СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ РЕМИНЕРАЛИЗИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ И НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Изучена клиническая эффективность сочетанного воздействия реминерализирующих лекарственных средств на основе казеин фосфопептид-аморфного фосфата кальция с фтором (CPP-ACFP) и низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) при комплексном лечении 90 зубов с неосложненным переломом коронки зуба 90 пациентов. Пациенты были разделены на три группы: в группе 1 применяли сочетанный метод CPP-ACFP + НИЛИ, в группе 2 – CPP-ACFP, в группе 3 – базовую терапию. В процессе лечения оценены показатели электровозбудимости пульпы зуба, температурной и тактильной чувствительности. При применении сочетанного метода CPP-ACFP + НИЛИ нормализация всех исследуемых показателей отмечалась через 1 неделю лечения, что позволило провести постоянное пломбирование зубов в данной группе уже в конце указанного срока. Для оценки эффективности лечения зубов с неосложненным переломом коронки в отдаленные сроки использовали метод изучения границы «зуб–пломба». Применение сочетанного метода позволило в большинстве случаев получить наивысший балл при оценке границы «зуб–пломба» через 24 мес. после лечения и ни одна реставрация не подлежала замене. Таким образом, разработанный сочетанный метод показал высокие результаты лечения неосложненного перелома коронки зуба и может быть рекомендован к использованию.

Ключевые слова: неосложненный перелом коронки зуба, гиперестезия зуба, реминерализирующая терапия, казеин фосфопептид-аморфный кальций фосфат с фтором (CPP-ACFP), низкоинтенсивное лазерное излучение.

I. K. Lutskaya, I. P. Kovalenko

Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

TREATMENT OF PATIENTS WITH UNCOMPLICATED FRACTURES OF THE TOOTH CROWN WITH COMBINED EFFECTS REMINERALIZING DRUGS AND LOW-INTENSITY LASER RADIATION

The objective of the article was to investigate the clinical effectiveness of the method, the combined effects of remineralizing medicines on the basis of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate fluoride and low-intensity laser (LLLT) in treatment of patients with an uncomplicated fracture of the tooth crown. The study included 90 patients (90 teeth) divided into the treatment group (combined methods of CPP-ACFP + LLLT), the control group (CPP-ACFP), and the comparison group with basic therapy. In the treatment process of dental pulp electroexcitability indicators were evaluated (EDI), temperature and tactile sensitivity. In the group (combined methods of CPP-ACFP + LLLT) the normalization of all parameters studied occurred after one week of treatment, allowing for permanent fillings in this group by the end of this period. To evaluate the effectiveness of the treatment of teeth with an uncomplicated fracture of the crown in the remote terms, the method was used method to study the "tooth–filling" borders. The use of the combined method (CPP-ACFP + LLLT) allowed in most cases to get the highest score in the evaluation of the "tooth–seal" border in 24 months after treatment and one restoration was not subjected to replacement. Thus, the developed combined method (CPP-ACFP + LLLT) allowed obtaining the excellent results of treatment of an uncomplicated fracture of the tooth crown and can be recommended for use.

Keywords: uncomplicated fracture of tooth crown, dental hyperesthesia, remineralizing therapy, casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate fluoride (CPP-ACFP), low-intensity laser radiation (LILR).

Введение. На фоне высокой распространенности основных стоматологических заболеваний у населения Беларуси актуальна проблема профилактики осложнений, возникающих после лечения кариеса, некариозных поражений, заболеваний пародонта и слизистой оболочки полости рта [1–6]. Аналогичная ситуация наблюдается и в отношении травм. Отмечается рост травматических поражений челюстно-лицевой области, переломов коронок и корней зубов [7–11]. Согласно данным ряда исследователей, из всех видов острой травмы зубов в постоянном прикусе наибольший вес (67 %) имеет перелом коронки в пределах эмали и дентина без поражения пульпы [9–15]. В Республике Беларусь, по данным анализа деятельности стоматологической службы, за период

© Луцкая И. К., Коваленко И. П., 2016

с 2011 по 2013 г. удельный вес неосложненного перелома коронки зуба в структуре заболеваний твердых тканей зуба составил от 6 до 8 % [16]. По результатам проведенного нами ретроспективного анализа стоматологических амбулаторных карт пациентов распространенность острой травмы зуба составила 17,8 ± 1,84 %, а распространенность перелома коронки в пределах эмали и дентина без поражения пульпы – 12,7 ± 1,6 %. Среди всех травматических повреждений зубов чаще встречался перелом коронки без повреждения пульпы (29,7 % случаев). Доля зубов с переломом коронки от всей острой травмы зуба составила 69,7 %.

При лечении таких пациентов первостепенной задачей является сохранение жизнеспособности пульпы травмированного зуба. Клинический опыт и анализ литературных данных свидетельствует о том, что, несмотря на сохранившийся значительный слой дентина над пульпой, после лечения зубов с неосложненным переломом коронки часто наблюдается выпадение пломб, развиваются пульпиты и периодонтиты [14–19]. Большинство исследователей указывают на наличие трещин в зубах с переломом коронки, которые ослабляют зубные ткани [13, 15, 17, 19, 20].

На сегодняшний день одним из основных направлений научных исследований является разработка и внедрение таких методов лечения, которые обеспечат максимальный лечебный эффект и снизят риск развития осложнений. Для снижения проницаемости и повышения резистентности твердых тканей травмированного зуба наиболее целесообразно использование реминерализирующей терапии. Необходимость проведения последней обоснована также использованием для пломбирования травмированных зубов композиционных материалов и адгезивных систем. Известно, что технология применения композитов предусматривает предварительную деминерализацию эмали и дентина, а адекватная гибридная зона, необходимая для качественной ретенции материала, формируется только при нормальном уровне минерализации твердых тканей зуба [1, 21].

Среди всего многообразия реминерализирующих средств особого внимания заслуживают биологически совместимые и биологически доступные комбинированные препараты, состоящие из неорганических (аморфный кальций фосфат – ACP) и органических (казеин-фосфопептид – CPP) компонентов, представленных в виде нанокластеров (CPP-ACP). Неорганические соединения в структуре эмали сходны по химическому составу и биологически совместимы с компонентами CPP-ACP. Данные многочисленных клинических и лабораторных исследований лекарственных средств на основе CPP-ACP свидетельствуют о быстром формировании в поверхностном слое эмали защитного резистентного слоя [10, 16, 20, 22].

С учетом характера патологических изменений, сопровождающих неосложненный перелом коронки зуба, актуальным представляется также использование низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) красного диапазона спектра, которое способствует нормализации микроциркуляторных показателей в пульпе зуба, обладает иммуностимулирующим действием, оказывает противокариозное действие, активизирует процессы реминерализации твердых тканей зуба. В литературных источниках имеются данные об использовании НИЛИ в сочетании с различными лечебными препаратами с целью устранения симптомов гиперестезии [22–25].

Цель настоящего исследования – оценка клинической эффективности сочетанного воздействия реминерализирующих лекарственных средств на основе казеин фосфопептид-аморфного фосфата кальция с фтором и низкоинтенсивного лазерного излучения в комплексном лечении пациентов с неосложненным переломом коронки зуба.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования явились 90 резцов 90 пациентов, проходивших лечение в УЗ «8-я клиническая стоматологическая поликлиника г. Минска» с диагнозом S02.51 («Перелом коронки зуба без повреждения пульпы», т. е. неосложненный перелом коронки зуба). Пациенты, распределенные в зависимости от метода лечения на три группы, были репрезентативны по полу, возрасту (средний возраст пациентов составил 26,8 года (SD = 5,6)), стоматологическому и общесоматическому статусу. Обследуемые предъявляли жалобы на боли в области травмированных зубов после воздействия температурных, химических, механических раздражителей, а также на наличие эстетического дефекта. Клинически на проксимальных поверхностях зубов с неосложненным переломом коронки определялись дефекты твердых тканей в пределах плащевого дентина с косым направлением линии перелома. Базовое

обследование пациентов проводили в соответствии с клиническими протоколами (Приложение № 1 к приказу Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 1245). Оценивали интенсивность кариеса (по индексу КПУ), гигиеническое состояние полости рта (OHI-S), регистрировали комплексный периодонтальный индекс (КПИ). Для детального исследования поверхности травмированного зуба использовали оптические системы (бинокулярную лупу с двукратным увеличением и люминесцентный фонарик (БелОМО)). Для определения чувствительности твердых тканей в результате воздействия температурных и тактильных раздражителей использовали цифровую рейтинговую шкалу Numerical Rating Scale (NRS), состоящую из 11 пунктов [26]. Интенсивность выраженности боли оценивали в зависимости от интенсивности болевых ощущений, выделяя 4 степени: отсутствие боли (0 баллов), слабую (1–3 балла), умеренную (4–6 баллов) и сильную (7 и более баллов) боль. Чувствительность от температурных раздражителей определяли путем воздействия струи воды из стоматологического пистолета, чувствительность от тактильных раздражителей – путем зондирования. Данные виды определения чувствительности были выбраны исходя из наименьшей агрессивности при их выполнении (по сравнению с высушиванием) и доступности для их оценки в клинических условиях (по сравнению с воздействием химических раздражителей).

Проводили внутриротовую рентгенографию. При изучении рентгеновского снимка травмированного зуба оценивали локализацию и направление перелома, близость поверхности отлома к полости зуба, наличие или отсутствие нарушения целостности корня зуба, а также состояние периапикальных тканей.

Электровозбудимость пульпы зуба оценивали с использованием аппарата ЭОД-2М не ранее чем через 2 ч после травмы.

Всем пациентам очищали поверхности травмированного зуба от налета с помощью вращающейся щеточки и профессиональной пасты на безмасляной основе. Затем обрабатывали твердые ткани 0,05 %-ным раствором хлоргексидина биглюконата и сошлифовывали острые края абразивными дисками средней и мелкой степени зернистости.

В группе 1 (сочетанный метод CPP-ACFP + НИЛИ) (n = 30) лечение заключалось в проведении реминерализирующей терапии лекарственным средством на основе аморфного фосфата кальция с фтором и НИЛИ (инструкция по применению «Методы диагностики и лечения неосложненного перелома коронки зуба», утвержденная Министерством здравоохранения Республики Беларусь 04.09.2015, регистрационный № 063-0615).

Алгоритм проведения метода:

аппликация реминерализирующего лекарственного средства на основе аморфного фосфата кальция со фтором (MI Paste Plus (GC)) (в состав препарата входит 10 % CPP-ACP, 13 mg (325 mM) Ca, 5,6 mg (187 mM) P, 900 ppm F);

сразу после нанесения реминерализирующего лекарственного средства осуществляли НИЛИ (методика облучения – контактная, стабильная, длина волны – 650 нм, плотность мощности 16–20 мВт/см², мощность – 7 мВт, экспозиция – по 40 с с вестибулярной и оральной сторон и поверхности перелома; курс – 7 дней);

после профессионального проведения комбинированной реминерализирующей терапии рекомендовали продолжать использование лекарственного средства в домашних условиях в соответствии с инструкцией по медицинскому применению (оптимально – после вечерней чистки зубов) сроком до 1 мес.

После нормализации показателей электроодонтометрии и при отсутствии жалоб со стороны пациента проводили восстановление анатомической формы и эстетических параметров травмированного зуба с использованием наногибридных композиционных материалов в сочетании с самопротравливающими адгезивными системами с дополнительным травлением эмали.

В группе 2 (CPP-ACFP) (n = 30) лечение заключалось в проведении реминерализирующей терапии лекарственным средством на основе аморфного фосфата кальция с фтором 2 раза в день в течение 2 недель в соответствии с инструкцией производителя. После нормализации показателей электровозбудимости пульпы, температурной и тактильной чувствительности восстановление анатомической формы и эстетических параметров травмированного зуба проводили так же, как в группе 1.

В группе 3 (базовая терапия) (n = 30) лечение зубов с переломом коронки без повреждения пульпы осуществляли в соответствии с клиническими протоколами (приложение 1 к приказу Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 26.12.2011 г. № 1245 «Клинический протокол диагностики и лечения пациентов (взрослое население) на терапевтическом стоматологическом приеме в амбулаторных условиях районных, областных и республиканских организаций здравоохранения»). Реминерализирующую терапию травмированных зубов не проводили. Восстановление анатомической формы и эстетических параметров зубов осуществляли в первое посещение, используя наногибридные композиционные материалы в сочетании с самопротравливающими адгезивными системами и дополнительным травлением эмали.

Для оценки эффективности проведенного лечения зубов с неосложненным переломом коронки использовали также метод изучения границы «зуб–пломба». Состояние поверхности пломб и их краевое прилегание оценивали полуколичественным методом по предлагаемым в литературных источниках критериям, а также на основании собственного клинического опыта [27]. Осуществляли визуальную оценку границы «зуб–пломба», зондирование и окрашивание границы, определение глубины проникновения красителя.

С целью унификации данных каждый из показателей оценивали в 0, 1, 2 и 3 балла, при этом 0 баллов считали самым плохим показателем, 1 балл – средним, 2 балла – хорошим и 3 балла – отличным.

Проверка выборки на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро–Уилка показала, что распределение не является нормальным, следовательно, были использованы непараметрические методы статистического анализа. Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха ($Q_{25\,\%}$; $Q_{75\,\%}$). Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез принят $p < 0{,}05$.

Результаты и их обсуждение. При клиническом осмотре травмированных зубов определялись дефекты твердых тканей в пределах плащевого дентина с косым направлением линии перелома. Использование бинокулярной лупы с двукратным увеличением и люминесцентного фонарика при обследовании твердых тканей травмированных зубов позволило визуализировать (выявить) множественные трещины эмали во всех зубах в 100 % случаев (85 % случаев – вертикальные трещины, 15 % – вертикальные и косые).

Прицельная рентгенограмма всех зубов с переломом коронки показала отсутствие части коронки зуба без сообщения с полостью зуба.

До начала лечения во всех группах среднее значение индексов-показателей стоматологического статуса достоверно не отличались (OHI-S в общей выборке – 1,6 [0,8–2,3], КПИ – 2 [0,8–2,6]). Во всех группах до начала лечения уровень гигиены полости рта оценивали как удовлетворительный, значимые различия по упрощенному индексу Грина–Вермиллиона между группами отсутствовали ($p \leq 0{,}0001$ по критерию Уилкоксона).

При осмотре, проведенном через 1 неделю после начала курса лечения, во всех группах гигиеническое состояние зубов значимо улучшилось ($p < 0{,}0001$ по критерию Уилкоксона для всех групп) и оценивалось как хорошее, показатели индекса OHI-S в трех исследуемых группах составили 0,6 [0,6–1]. Различия между группами статистически не значимы ($p = 0{,}115$ по критерию Манна–Уитни).

Обследование, проведенное через 2 недели и 1 мес. после начала курса лечения, выявило отсутствие значимого ухудшения гигиенического состояния полости рта во всех группах исследования. Так, в группах 1 и 2 показатель индекса OHI-S через 2 недели и 1 мес. составил 0,6 [0,6–0,8] , а в группе 3 – 0,6 [0,6–1,0] ($p = 1{,}000$ по критерию Уилкоксона), т. е. по сравнению с таковым при базовом осмотре состояние значительно улучшилось ($p < 0{,}0001$ по критерию Уилкоксона).

До начала лечения данные комплексного периодонтального индекса в трех группах значимо не различались ($p = 0{,}144$ по критерию Манна–Уитни) – состояние тканей периодонта характеризовалось как поражение средней степени тяжести. Абсолютные значения составляли: в группе 1 – 2,2 [0,8–2,6], в группах 2 и 3 – 2,5 [0,8–2,6] и 2,6 [1,0–2,6] соответственно.

Осмотр, проведенный через 1 неделю, выявил значимое улучшение состояния тканей периодонта пациентов во всех группах исследования. Так, в группе 1 абсолютные значения показателя

индекса снизились с 2,2 [0,8–2,6] до 0,7 [0,6–1,0] ($p < 0,0001$ по критерию Уилкоксона), в группах 2 и 3 – с 2,5 [0,8–2,6] до 1,0 [0,6–1,0] и с 2,6 [1,0–2,6] до 0,8 [0,8–1,0] соответственно ($p < 0,0001$ по критерию Уилкоксона), что расценивалось как риск развития заболеваний периодонта. Различия между группами статистически не значимы ($p = 0,09$ по критерию Манна–Уитни).

Обследование, проведенное через 2 недели и 1 мес. после начала курса лечения, не выявило значимого ухудшения состояния тканей периодонта по сравнению с предыдущим осмотром. Так, через 2 недели и 1 мес. в группах 1 и 2 показатели индекса составили 0,6 [0,6–0,8], а в группе контроля – 0,8 [0,6–1,0]. Состояние тканей периодонта пациентов всех трех групп значимо улучшилось ($p < 0,0001$ по критерию Уилкоксона) по сравнению с таковым при базовом осмотре. Различия между группами статистически не значимы ($p = 0,091$ по критерию Манна–Уитни).

Для оценки эффективности предлагаемого сочетанного метода воздействия реминерализирующих препаратов на основе CPP-ACFP и НИЛИ нами использован показатель электровозбудимости пульпы (ЭОД), который позволяет определить наличие репаративных процессов в пульпе зуба в динамике.

Базовый осмотр выявил отсутствие значимых различий между группами в показателях электровозбудимости пульпы по показателю ЭОД. Так, в группах 1 и 2 показатель составил 9 [8–10], в группе 3 – 9 [7–10] ($p \leq 0,05$ (в нашем случае $p = 0,004$) по критерию Манна–Уитни).

Осмотр, проведенный через 1 неделю, показал, что показатель электровозбудимости пульпы значимо уменьшился: в группе 1 он составил 5 [5–6], достигнув нормальных значений ($p < 0,005$ по критерию Уилкоксона), а в группе 2 – 7 [6–7] ($p < 0,005$ по критерию Уилкоксона). Выявлены достоверные различия в показателях электровозбудимости пульпы между группами 1 и 2 ($p < 0,001$ по критерию Манна–Уитни). Показатель электровозбудимости пульпы в группе 3 через 7 дней значимо не уменьшился и составил 9 [7–9] ($p < 0,001$ по критерию Манна–Уитни).

Обследование, проведенное через 2 недели, показало, что показатель электровозбудимости пульпы в группе 1 незначительно уменьшился и находился в пределах нормальных значений (5 [4–5], $p < 0,0001$ по критерию Уилкоксона). Данный показатель в группе 2 значимо уменьшился ($p < 0,005$) и достиг нормальных значений (5 [5–5]), в то время как в группе 3 его значение не изменилось и составило 9 [7–9] ($p < 0,01$ по критерию Манна–Уитни). Выявлено отсутствие значимых различий между группами 1 и 2, но в то же время зафиксированы значимые различия с группой 3, где пациенты пролечены стандартным методом ($p < 0,0001$ по критерию Манна–Уитни).

Осмотр, проведенный через 1 мес., не выявил значимого уменьшения показателя электровозбудимости пульпы во всех трех группах исследования. Так, в группах 1 и 2 показатель оставался в пределах нормы – 5,0 [4–5] ($p \leq 0,001$ по критерию Манна–Уитни), достоверные различия между группами отсутствовали. В группе 3 показатель не изменился и оставался значимо выше нормальных значений (9,0 [7–10], $p \leq 0,05$ по критерию Манна–Уитни).

Одним из результатов успешно проведенной реминерализирующей терапии является снижение повышенной чувствительности зубов на температурные и тактильные раздражители.

Базовый осмотр выявил отсутствие значимых различий между группами в показателях температурной чувствительности по тесту NRS. Так, в группах 1 и 2 этот показатель составил 6 [5–6], в группе 3 – 5 [5–6] ($p = 0,432$ по критерию Манна–Уитни), что соответствовало умеренной степени выраженности чувствительности во всех трех группах.

Осмотр, проведенный через 1 неделю, показал, что в группе 1 температурная чувствительность по тесту NRS значимо снизилась (до 0 [0–0], $p < 0,0001$ по критерию Уилкоксона), а в группе 2 этот показатель снизился (до 2 [2–2], $p < 0,05$ по Уилкоксону), однако оставался значимо выше нормальных значений (так как вероятность, которая определяется пороговым значением $p \leq 0,05$, должна стремиться к своему минимальному значению, в группе 1 оказалась намного меньше, чем в группе 2). Таким образом, выявлены достоверные различия в показателях температурной чувствительности между группами 1 и 2 ($p < 0,0001$ по критерию Манна–Уитни). Показатель температурной чувствительности по тесту NRS в группе 3 через 7 дней также значимо уменьшился (до 3 [3–3], $p < 0,005$ по критерию Уилкоксона), однако оставался значимо выше нормальных значений ($p \leq 0,05$ по критерию Манна–Уитни). При этом выявлены достоверные

различия в показателях температурной чувствительности между группой 3 и группами 2 и 1 (сочетанный метод CPP-ACFP + НИЛИ) ($p < 0{,}0001$ по критерию Манна–Уитни).

Обследование, проведенное через 2 недели, показало, что показатель температурной чувствительности по тесту NRS в группе 1 оставался в пределах нормальных значений (0 [0–0], $p = 1{,}000$ по критерию Уилкоксона), а в группе 2 он значимо уменьшился ($p < 0{,}05$ по критерию Уилкоксона) и достиг 0 [0–0], что соответствовало нормальным показателям. В то же время в группе 3 значения этого показателя не изменились и оставались в пределах 3 [3–3], что соответствовало слабой болевой чувствительности. Выявлено отсутствие значимых различий между группами 1 (сочетанный метод CPP-ACFP + НИЛИ) и 2, но в то же время зафиксированы значимые различия с группой 3, где была проведена терапия стандартным методом ($p < 0{,}001$ по критерию Манна–Уитни).

Осмотр, проведенный через 1 мес., не выявил значимого изменения показателя температурной чувствительности по тесту NRS во всех трех группах. Так, в группах 1 и 2 показатель указывал на отсутствие болевой чувствительности и составлял 0 [0–0], достоверные различия между группами не выявлены (при $p = 1{,}000$ по критерию Манна–Уитни). В группе 3 показатель температурной чувствительности значимо не снизился (3 [3–3], $p < 0{,}05$ по критерию Уилкоксона), что соответствовало наличию слабой болевой чувствительности, и оставался значимо выше нормальных значений. Выявлена достоверность различий между всеми группами 1 и 2 и группой 3 ($p \leq 0{,}05$ по критерию Манна–Уитни (в нашем случае $p = 0{,}043$).

Базовый осмотр показал отсутствие значимых различий между группами в показателях тактильной чувствительности по тесту NRS. Так, в группе 3 показатель составил 4 [4–6], в группах 1 и 2 абсолютные значения по тесту NRS составили 4 [3–5] ($p = 0{,}427$ по критерию Манна–Уитни), что соответствовало умеренной степени выраженности чувствительности во всех трех группах.

Осмотр, проведенный через 1 неделю, показал, что тактильная чувствительность по тесту NRS значимо снизилась как в группе 1 (до 0 [0–0], $p = 1{,}000$ по критерию Уилкоксона), так и в группе 2 (до 2 [1,75–2], $p < 0{,}005$ по критерию Уилкоксона), однако оставалась значимо выше нормальных значений ($p \leq 0{,}05$ по критерию Манна–Уитни). Выявлены достоверные различия в показателях тактильной чувствительности между группами 1 и 2 ($p < 0{,}0001$ по критерию Манна–Уитни). Показатель тактильной чувствительности по тесту NRS в группе 3 через 7 дней также значимо уменьшился (до 2 [2–2], $p < 0{,}005$ по критерию Уилкоксона), однако оставался значимо выше нормальных значений (при сравнении с группами 1 и 2 $p \leq 0{,}05$ по критерию Манна–Уитни). При этом выявлены достоверные различия в показателях температурной чувствительности между группой 3 и группами 1 и 2 ($p < 0{,}0001$ по критерию Манна–Уитни).

Обследование, проведенное через 2 недели, показало, что показатель тактильной чувствительности по тесту NRS в группе 1 оставался в пределах нормальных значений (0 [0–0], $p = 1{,}000$ по критерию Уилкоксона). Данный показатель в группе 2 значимо уменьшился ($p < 0{,}005$) и также достиг 0 [0–0], что соответствовало нормальным показателям, в то время как в группе 3 его значения не изменились и оставались в пределах 2 [2–2] ($p \leq 0{,}01$ по критерию Уилкоксона), что соответствовало слабой болевой чувствительности. Выявлено отсутствие значимых различий между группами 1 и 2, но в то же время зафиксированы значимые различия с группой 3, где пациенты были пролечены стандартным методом ($p < 0{,}0001$ по критерию Манна–Уитни).

Осмотр, проведенный через 1 мес., не выявил значимого изменения показателя тактильной чувствительности по тесту NRS во всех трех группах исследования. Так, в группах 1 и 2 показатель указывал на отсутствие болевой чувствительности и составлял 0 [0–0], достоверные различия между группами не выявлены. В группе 3 этот показатель значимо не изменился (2 [2–2], $p \leq 0{,}05$ по критерию Уилкоксона) и оставался значимо выше нормальных значений, что соответствовало наличию слабой болевой чувствительности. Выявлена достоверность различий между группами 1 и 2 и группой 3 ($p = 0{,}487$ при сравнении трех групп по критерию Манна–Уитни).

Таким образом, на основании проведенного анализа данных электроодонтометрии, температурной и тактильной чувствительности установлено, что нормализация всех исследуемых показателей в группе 1 произошла через 1 неделю лечения, что позволило провести постоянное пломби-

рование зубов в данной группе уже в конце указанного срока. В группе 2 реставрация была проведена через 2 недели к моменту нормализации указанных показателей.

В группе 3, где проведено пломбирование травмированных зубов в первое посещение, в течение месяца в 80 % случаев пациенты предъявляли жалобы на повышенную чувствительность от температурных раздражителей и чувство дискомфорта при накусывании. В этой группе пациентов в течение месяца была проведена замена 4 (16,7 %) реставраций с предварительным проведением реминерализирующей терапии, в 20 % случаях зубы с постоянными реставрациями были обработаны препаратами фтора. В группах 1 и 2 жалобы пациентов на повышенную чувствительность леченых зубов отсутствовали.

Через 6, 12, 24 мес. после постановки пломб пациентов всех трех групп вызывали для повторного осмотра изготовленных конструкций.

Оценке подлежали по 30 реставраций в группах 1 и 2, 26 – в группе 3 (4 из 30 выполненных реставраций подлежали замене в течение 1 мес.).

Через 6 мес. после реставрации по всем критериям (визуальная оценка, зондирование поперек границы «зуб–пломба», окрашивание границы и оценка степени проникновения красителя) реставрации в группе 1 показали отличные результаты (оценка – 3 балла) в 100 % случаев. В группе 2 по всем указанным выше критериям 28 (93,4 %) реставраций получили высшую оценку, в 1 (3,3 %) реставрации выявлен зазор в области менее 1/3 длины границы, при зондировании зонд задерживался, отмечались шероховатость в области до 1/3 длины границы, а также слабое окрашивание, которое удаляли путем полирования силиконовой головкой. В 1 (3,3 %) реставрации выявлен зазор в пределах от 1/3 до 2/3 длины границы, при зондировании зонд задерживался, отмечались шероховатость в пределах от 1/3 до 2/3 длины границы (1 балл) и умеренное окрашивание, которое удаляли путем полирования абразивным гибким диском. Достоверных различий между группами 1 и 2 не выявлено.

В группе 3 через 6 мес. при визуальной оценке границы и зондировании поперек границы «зуб–пломба» в 25 (83,3 %) реставрациях отсутствовал зазор и зонд не застревал (3 балла), в 1 (3,3 %) реставрации выявлен зазор в пределах от 1/3 до 2/3 длины границы и при зондировании зонд задерживался, а также отмечалась шероховатость в пределах от 1/3 до 2/3 длины границы (1 балл). По окрашиванию границы «зуб–пломба» и степени проникновения красителя в область границы «зуб–пломба» в 23 (76,6 %) реставрациях окрашивание отсутствовало (3 балла), 2 (6,7 %) реставрации имели слабое окрашивание, которое удаляли путем полирования силиконовой головкой, у 1 (3,3 %) реставрации отмечалось умеренное окрашивание границы «зуб–пломба» (1 балл), которое удаляли путем полирования абразивным гибким диском. При этом выявлены достоверные различия по всем показателям между группами 1 и 2 и группой 3 ($p < 0,05$ по критерию Манна–Уитни).

Через 12 мес. после проведения реставраций в группе 1 по таким критериям, как визуальная оценка границы «зуб–пломба» и зондирование поперек границы «зуб–пломба», все реставрации (100 %) соответствовали высшей оценке (3 балла в 100 % случаев) ($p \leq 0,05$ по критерию Уилкоксона). Слабое окрашивание границы «зуб–пломба» отмечалось у 1 (3,3 %) реставрации ($p \leq 0,01$ по критерию Уилкоксона), которое удаляли путем полирования с помощью силиконовой головки. В группе 2 (CPP-ACFP) по таким критериям, как визуальная оценка границы «зуб–пломба» и зондирование поперек границы «зуб–пломба», 28 (93,4 %) реставраций соответствовали высшей оценке – 3 балла, а по окрашиванию границы «зуб–пломба» и степени проникновения красителя в область границы «зуб–пломба» высшей оценке соответствовали 27 (90,0 %) реставраций. Слабое окрашивание границы «зуб–пломба» отмечалось у 1 (3,3 %) реставрации ($p \leq 0,01$ по критерию Уилкоксона), которое удаляли путем полирования с помощью силиконовой головки. В группе 2 при визуальной оценке в 2 (6,7 %) реставрациях отмечался зазор в области более 2/3 длины границы (0 баллов), при зондировании зонд задерживался, отмечались шероховатость в области более 2/3 длины границы (0 баллов) и интенсивное окрашивание границы «зуб–пломба» (0 баллов). Эти две реставрации были заменены. Выявлена достоверность раз-

личий по всем указанным оценочным критериям между группами 1 и 2 ($p \leq 0,05$ по критерию Манна–Уитни).

В группе 3 через 12 мес. по таким критериям, как визуальная оценка границы «зуб–пломба» и зондирование поперек границы «зуб–пломба», 23 (76,6 %) реставрации соответствовали высшей оценке – 3 балла, в 2 (6,7 %) реставрациях при зондировании выявлен зазор в пределах от 1/3 до 2/3 длины границы (2 балла), зонд задерживался и наблюдалась шероховатость в пределах от 1/3 до 2/3 длины границы (2 балла), у 1 (3,3 %) реставрации при зондировании определялся зазор в области более 2/3 длины границы, зонд задерживался и отмечалась шероховатость в области более 2/3 длины границы ($p \leq 0,05$ по критерию Уилкоксона). По окрашиванию границы «зуб–пломба» и степени проникновения красителя в область границы «зуб–пломба» спустя 12 мес. после выполнения реставрации только 21 (70,0 %) реставрация соответствовала высшей оценке – 3 балла ($p \leq 0,05$ по критерию Уилкоксона), 2 (6,7 %) реставрации имели слабое окрашивание (2 балла), которое удаляли путем полирования с помощью силиконовой головки, у 1 (3,3 %) реставрации отмечалось интенсивное окрашивание границы «зуб–пломба» (0 баллов) и она подлежала замене. По критерию Манна–Уитни при вероятности $p \leq 0,05$ выявлены статистически достоверные различия между группами 1 и 2 и группой 3.

Спустя 24 мес. после постановки реставраций в группе 1 по таким критериям, как визуальная оценка границы «зуб–пломба» и зондирование поперек границы «зуб–пломба», все реставрации (100 %) соответствовали высшей оценке (3 балла в 100 % случаев) (в соответствии с критерием Уилкоксона по отношению к предыдущему периоду различия не выявлены, т. е. сохранена положительная тенденция), в группе 2 по вышеуказанным критериям 27 (90,0 %) реставраций соответствовали высшей оценке – 3 балла, у 1 (3,3 %) реставрации при зондировании имелся зазор в области менее 1/3 длины границы, при этом зонд задерживался и отмечалась шероховатость в области до 1/3 длины границы ($p \leq 0,01$ по критерию Уилкоксона). Выявлена достоверность различий по данным критериям оценки между группами 1 и 2 ($p \leq 0,05$ по критерию Манна–Уитни). Слабое окрашивание границы «зуб–пломба» отмечалось в 2 (6,7 %) реставрациях в группе 1 и в 2 (6,7 %) в группе 2. Выявлена достоверность различий по показателям окрашивания и степени проникновения красителя в область границы «зуб–пломба» между группами 1 и 2 ($p \leq 0,05$ по критерию Манна–Уитни).

В группе 3 через 2 года после постановки реставраций по всем изучаемым критериям лишь 21 (70,0 %) реставрация соответствовала высшей оценке – 3 балла, оценку «2» по тем же критериям получили 2 реставрации (6,7 %), оценку «0» – 2 (6,7 %) реставрации. По критерию Манна–Уитни при вероятности $p \leq 0,05$ выявлены статистически достоверные различия между группами 1 и 2 и группой 3. На данном этапе, по данным клинической оценки, в группе 3 проведена замена двух реставраций.

Таким образом, за 24 мес., прошедших с момента после окончания лечения, в группе 3 заменено 7 (23,3 %) реставраций, в группе 2 подлежали замене 2 (6,7 %) реставрации, а в группе 1 в замене реставраций не было необходимости. Высшей оценке (3 балла) в группах 3, 2 и 1 соответствовало 70,0; 86,7 и 93,3 % реставраций.

Заключение. Клиническая эффективность разработанного нами метода подтверждается исследованиями, проведенными в ближайшие и отдаленные сроки. Использование метода позволило избежать гиперестезии после пломбирования зуба с переломом коронки, которая в группе с применением базовой терапии привела к замене 13,4 % реставраций в течение 1 мес., а в группах 1 и 2 замена реставраций за тот же период времени не проводилась. Проведенная реминерализирующая терапия препаратом на основе казеинфосфопептид аморфного фосфата кальция с фтором и НИЛИ позволила в 93,3 % случаев получить наивысший балл при оценке границы «зуб–пломба» через 24 мес. после проведенного лечения и ни одна реставрация не подлежала замене. В то же время в группах 2 (CPP-ACFP) и 3 (базовая терапия) в те же сроки подлежало замене 6,7 % ($F = 0,17$) и 23,3 % ($F = 0,13$, $p = 0,005$) реставраций соответственно, а высший балл при их оценке регистрировался в 86,7 % случаев в группе 2 и в 70,0 % случаев в группе 3 ($F = 0,09$, $p = 0,021$).

Список использованных источников

1. Луцкая, И. К. Эстетическое пломбирование некариозных дефектов твердых тканей зуба / И. К. Луцкая, Е. И. Марченко, И. Г. Чухрай // Соврем. стоматология. – 2012. – № 1. – С. 29–31.

2. Леус, П. А. Стоматология Беларуси в XXI веке / П. А. Леус // Стоматол. журн. – 2005. – № 4. – С. 2–6.

3. Леус, П. А. Некариозные болезни твердых тканей зубов / П. А. Леус // Стоматол. журн. – 2007. – № 3. – С. 209–211.

4. Марченко, Е. И. Особенности стоматологического и общесоматического статуса у лиц молодого возраста / Е. И. Марченко, И. Г. Чухрай, И. Л. Бобкова // Актуальные вопросы антропологии: сб. науч. тр. – Минск, 2013. – Вып. 8. – С. 315–322.

5. Результаты эпидемиологического обследования населения Республики Беларусь в 2010 году. Ч. 1 / Н. А. Юдина [и др.] // Стоматол. журн. – 2011. – № 1. – С. 22–26.

6. Луцкая, И. К. Диагностика и лечение гиперестезии при травматическом повреждении зубов / И. К. Луцкая, О. А. Лопатин, И. П. Коваленко // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2013. – № 4. – С. 83–90.

7. Артюшкевич, В. С. Повреждения зубов при механической травме // Организация, профилактика, новые технологии и реабилитация в стоматологии: материалы IV съезда стоматологов Беларуси / В. С. Артюшкевич, А. С. Артюшкевич, В. В. Шило. – Витебск, 2000. – С. 333–335.

8. Traumatic dental injuries: etiology, prevalence and possible outcomes / V. Zaleckiene [et al.] // Stomatologija. – 2014. – N 16. – P. 7–14.

9. Травматизм челюстно-лицевой области среди населения / И. С. Копецкий [и др.] // Рос. мед. журн. – 2009. – № 6. – С. 3–6.

10. Сунцов, В. Г. Повышение эффективности лечения травматических переломов передних зубов у детей / В. Г. Сунцов, Н. В. Голочалова, В. Д. Ландинова // Соврем. стоматология. – 2001. – № 4. – С. 34–36.

11. Lam, R. Epidemiology and outcomes of traumatic dental injuries: a review of the literature / R. Lam // Austr. Dent. J. – 2016. – Vol. 61, N 1, suppl. – P. 4–20.

12. Traumatic dental injuries: a manual / J. O. Andreasen [et al.]. – 3rd ed. – Chichester: Wiley-Blackwell, 2011. – 100 p.

13. Fracture strength of tooth fragment reattachments with postpone bevel and overcontour reconstruction / E. Stellini [et al.] // Dent. Traumatol. – 2008. – Vol. 24, N 3. – P. 283–288.

14. Zaleckiene, V. Traumatic dental injuries etiology, prevalence and possible outcomes / V. Zaleckiene [et al.] // Stomatologija. – 2014. – Vol. 16, N 1. – P. 7–14.

15. Чупрынина, Н. М. Травма зубов / Н. М. Чупрынина, А. И. Воложин, Н. В. Гинали. – М.: Медицина, 1993. – 160 с.

16. Коваленко, И. П. Выбор методов диагностики и лечения неосложненного перелома коронки зуба / И. П. Коваленко // Стоматол. журн. – 2015. – № 1. – С. 39–43.

17. Терехова, Т. Н. Травматические повреждения твердых тканей зубов у детей / Т. Н. Терехова, К. А. Горбачева // Соврем. стоматология. – 2006. – № 1. – С. 22–27.

18. Травматические повреждения постоянных зубов у детей и подростков / В. П. Михайловская [и др.] // Актуальные вопросы стоматологии: материалы 6-й Междунар. науч.-практ. конф. по стоматологии. – Минск, 2007. – С. 57–58.

19. Prediction factors for failure to seek treatment following traumatic dental injuries to primary teeth [Electronic resource] / R. T. Firmino [et al.] // Braz. Oral Res. – 2014. – Vol. 28, N 1. – Режим доступа: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-83242014000100227 &lng=en&nrm=iso&tlng=en. – Дата доступа: 28 April 2016.

20. Макеева, И. М. Модифицированный алгоритм лечения неосложненного перелома коронки постоянных зубов с незавершенным формированием корней / И. М. Макеева, М. В. Скарапульцева // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2010. – Т. IX, № 3. – С. 13–20.

21. Ронь, Г. И. К вопросу о выборе бондинговых систем при лечении кариеса / Г. И. Ронь, Ю. В. Мандра // Настольная книга стоматолога, работающего материалами фирмы Heraeus Kulzer. – М.: Клин. стоматология, 2000. – С. 8–11.

22. Влияние реминерализующих комплексов казеин фосфопептид-аморфного кальций фосфата и низкоинтенсивного лазерного излучения на содержание кальция и фосфора в дентине зубов / И. К. Луцкая [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2015. – № 3.– С. 36–45.

23. Treatment of white spot lesions with ACP paste and microabrasion / B. T. Pliska [et al.] // Angle Orthod. – 2012. – Vol. 82, N 5. – P. 765–769.

24. Wang, J. X. Clinical evaluation of remineralization potential of casein phoshopeptide amorphous calcium phosphate nanocomplexes for enamel decalcification in orthodontics / J. X. Wang, Y. Yan, X. J. Wang // Chin. Med. J. – 2012. – Vol. 125, N 22. – P. 4018–4021.

25. Yeng, N. An investigation into dentists´management methods of dental trauma to maxillary permanent incisors in Victoria, Australia / N. Yeng, P. Parashos // Dent. Traumatol. – 2008. – Vol. 24, N 4. – P. 443–448.

26. Assessment of pain / H. Breivik [et al.] // Br. J. Anaest. – 2008. – Vol. 101, N 1. – P. 17–24.

27. Критерии оценки качества пломб из композиционных материалов в отдаленные сроки / И. М. Макеева [и др.] // Тр. VII Всерос. съезда стоматологов. – М., 2001. – С. 71.

References

1. Lutskaya, I. K., Marchenko, E. I. and Chukhrai, I. G. (2012) “Aesthetic filling carious defects of dental hard tissues”, *Sovremennaya stomatologiya* [Modern stomatology], no. 1, pp. 29-31.

2. Leus, P. A. (2005) “Belarus Dentistry in XXI century”, *Stomatologicheskii zhurnal* [Stomatologic journal], no. 4, pp. 2-6.

3. Leus, P. A. (2007) "Non-carious disease hard tissue of teeth", *Stomatologicheskii zhurnal* [Stomatologic journal], no. 3, pp. 209-211.

4. Marchenko, E. I., Chukhrai, I. G. and Bobkova, I. L. (2013) "Features dental and somatic status in young adults", *Aktual'nye voprosy antropologii: sbornik nauchnykh trudov* [Topical issues of Anthropology: collection of scientific papers], Belaruskaya navuka, Minsk, BY, no. 8, pp. 315-322.

5. Yudina, N. A., Yuris, O. V., Rusak, A. S., Brovka, D. K. and Shabun'ka, D. V. (2011) "Results of an epidemiological survey of the population of the Republic of Belarus in 2010" *Stomatologicheskii zhurnal* [Stomatologic journal], no. 1, pp. 22-26.

6. Lutskaya, I. K., Lopatin, O. A. and Kovalenko, I. P. (2013) "Diagnosis and treatment of hypersensitivity in traumatic dental injury", *Izvestiya Natsional'noi akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Series of Medical Sciences], no. 4, pp. 83-90.

7. Artyushkevich, V. S., Artyushkevich, A. S. and Shilo, V. V. (2000) "Damage to the teeth after mechanical injury", *Organizatsiya, profilaktika, novye tekhnologii i reabilitatsiya v stomatologii: materialy IV s'ezda stomatologov Belarusi* [The organization, prevention, rehabilitation, and new technologies in dentistry: materials of the IV Congress of dentists Belarus], Vitebsk, BY, pp. 333-335.

8. Zaleckiene, V., Peciuliene, V., Brukiene, V. and Drukteinis, S. (2014) "Traumatic dental injuries: etiology, prevalence and possible outcomes", *Stomatologiya* [Stomatology], no. 16, pp. 7-14.

9. Kopetskii, I. S., Prityko, A. G., Polunina, N. V. and Nasibullin, A. M. (2009) "Injuries maxillofacial population", *Rossiiskii meditsinskii zhurnal* [Russian Medical Journal], no. 6, pp. 3-6.

10. Suntsov, V. G., Golochalova, N. V. and Landinova, V. D. (2001) "Improving the efficiency of the treatment of traumatic fractures of the front teeth in children", *Sovremennaya stomatologiya* [Modern stomatology], no. 4, pp. 34-36.

11. Lam, R. (2016) "Epidemiology and outcomes of traumatic dental injuries: a review of the literature", *Australian Dental Journal*, vol. 61, suppl. 1, pp. 4-20.

12. Andreasen, J. O. (2011) *Traumatic dental injuries: a manual,* Wiley-Blackwell, Chichester, UK.

13. Stellini, E., Stomaci, D., Stomaci, M., Petrone, N. and Favero, L. (2008) "Fracture strength of tooth fragment reattachments with postpone bevel and overcontour reconstruction", *Dental Traumatology*, vol. 24, no. 3, pp. 283-288.

14. Zaleckiene, V., Peciuliene, V., Brukiene, V. and Drukteinis, S. (2014) "2Traumatic dental injuries etiology, prevalence and possible outcomes", *Stomatologija*, vol. 16, no. 1, pp. 7-14.

15. Chuprynina, N. M., Volozhin, A. I. and Ginali, N. V. (1993) *Travma zubov* [Dental Trauma], Meditsina, Moscow, RU.

16. Kovalenko, I. P. (2015) "Selection of methods of diagnosis and treatment of complicated crown fracture", *Stomatologicheskii zhurnal* [Stomatologic journal], no. 1, pp. 39-43.

17. Terekhova, T. N. and Gorbacheva, K. A. (2006) "Traumatic injuries of hard tissue of teeth in children", *Sovremennaya stomatologiya* [Modern stomatology], no. 1, pp. 22-27.

18. Mikhailovskaya, V. P., Belaya, T. G., Al'khimovich, I. V. and Gorbacheva, E. F. (2007) "Traumatic injuries of permanent teeth in children and adolescents", *Aktual'nye voprosy stomatologii: materialy 6-i Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii po stomatologii* [Topical issues of dentistry: materials 6th Mezhdunararodnaya scientific-practical conference on stomatology], Minsk, BY, pp. 57-58.

19. Firmino, R. T., Siqueira, M. B., Vieira-Andrade, R. G., Gomes, G. B., Martins, C. C., Paiva, S. M. and Granville-Garcia, A. F. (2014) "Prediction factors for failure to seek treatment following traumatic dental injuries to primary teeth", *Brazilian Oral Research*, vol. 28, no. 1. Available at: http://www.scielo.br/ scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-83242014000100227&lng=en&nrm=iso&tlng=en (Accessed 28 April 2016).

20. Makeeva, I. M. and Skarapul'tseva, M. V. (2010) "Modified algorithm of treatment of uncomplicated crown fracture of permanent teeth with incomplete root formation", *Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika* [Childhood Dentistry and Prevention], T. IX, no. 3, pp. 13-20.

21. Ron', G. I. and Mandra, Yu. V. (2000) "On the selection of the bonding systems for the treatment of caries", *Nastol'naya kniga stomatologa, rabotayushchego materialami firmy Heraeus Kulzer* [Reading a book dentist working Heraeus Kulzer company materials], Moscow, RU, pp. 8-11.

22. Lutskaya, I. K., Kovalenko, I. P., Bel'kov, M. V., Torkailo, E. M. and Grishan, I. S. (2015) "Effect of remineralization systems casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and low-intensity laser radiation on calcium and phosphorus content in the dentin of the teeth", *Izvestiya Natsional'noi akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Series of Medical Sciences], no. 3, pp. 36-45.

23. Pliska, B. T., Warner, G. A., Tantbirojn, D. and Larson, B. E. (2012) "Treatment of white spot lesions with ACP paste and microabrasion", *Angle Orthodontist*, vol. 82, no. 5, pp. 765-769.

24. Wang, J. X., Yan, Y. and Wang, X. J. (2012) "Clinical evaluation of remineralization potential of casein phoshopeptide amorphous calcium phosphate nanocomplexes for enamel decalcification in orthodontics", *Clinese Medical Journal*, vol. 125, no. 22, pp. 4018-4021.

25. Yeng, N. and Parashos, P. (2008) "An investigation into dentists´management methods of dental trauma to maxillary permanent incisors in Victoria, Australia", *Dental Traumatology*, vol. 24, no. 4, pp. 443-448.

26. Breivik, H., Borchgrevink, P. C., Allen, S. M., Rosseland, L. A., Romundstad, L., Hals, E. K., Kvarstein, G. and Stubhaug, A. (2008) "Assessment of pain", *British Journal of Anaesthesia*, vol. 101, no. 1, pp. 17-24.

27. Makeeva, I. M., Zhokhova, N. S., Adilkhanyan, V. A. and Dodal'yan, D. V. (2001) "Criteria for assessing the quality of fillings made of composite materials in the long-term period", *Trudy VII Vserossiiskogo s'ezda stomatologov* [Proceedings of the VII All-Russian Congress of dentists], Moscow, RU, p. 71.

Информация об авторах

Луцкая Ирина Константиновна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой терапевтической стоматологии. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. Петруся Бровки, 3/3, 220013, Минск, Республика Беларусь)

Коваленко Ирина Петровна – ассистент кафедры терапевтической стоматологии. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. Петруся Бровки, 3/3, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kovalenko.stom@gmail.com

Для цитирования

Луцкая, И. К. Лечение пациентов с неосложненным переломом коронки зуба с помощью сочетанного воздействия реминерализирующих препаратов и низкоинтенсивного лазерного излучения / И. К. Луцкая, И. П. Коваленко // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – № 4. – С. 66–76.

Information about the authors

Lutskaya Irina Konstantinovna – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Therapeutic Dentistry. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3-3, Petrus Brovki Str., 220118, Minsk, Republic of Belarus)

Kovalenko Irina Petrovna – Assistant of the Department of Therapeutic Dentistry. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3-3, Petrus Brovki Str., 220118, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kovalenko.stom@gmail.com

For citation

Lutskaya I. K. , Kovalenko I. P. Treatment of patients with uncomplicated fractures of the tooth crown with combined effects remineralizes drugs and low intensity laser radiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series*, 2016, no. 4, pp. 66–76.

ISSN 1814-6023 (print)
УДК 612.39+620.2:664.34

Поступила в редакцию 27.07.2016
Received 27.07.2016

В. А. Гуринович[1], С. Н. Омельянчик[1], Е. П. Лукиенко[1], Т. А. Бородина[1], Е. М. Моргунова[2], А. Г. Мойсеёнок[1]

[1]Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Республика Беларусь
[2]Научно-практический центр НАН Беларуси по продовольствию, Минск, Республика Беларусь

РИСКИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ПОТРЕБЛЕНИИ ПАЛЬМОВОГО МАСЛА

У подопытных животных (белые крысы линии Wistar) в результате 4-недельного потребления пальмового масла (ПМ) в количестве 5–10 %/100 г рациона наблюдались проявления окислительного стресса, нарушения системы глутатиона печени со снижением ее антиоксидантного и детоксикационного потенциала и синдром «секвестирования» кофермента А (КоА), предполагающий аккумулирование труднометаболизируемых ацил-КоА производных – метаболитов ПМ. Полученные данные указывают на неблагоприятный эффект ПМ при хроническом потреблении жиров в количестве, соответствующем физиологической дозе в питании млекопитающих. Предполагается, что накопление продуктов окисления жирных кислот в организме при потреблении ПМ может инициировать предболезненное состояние, характерное для генетически детерминированных нарушений метаболизма ацил-КоА.

Ключевые слова: пальмовое масло, окислительный стресс, система глутатиона, редокс-статус, система кофермента А, ацил-КоА.

V. A. Gurinovich[1], S. N. Omelyanchik[1], Ye. P. Lukienko[1], T. A. Borodina[1], E. M. Morgunova[2], A. G. Moiseenok[1]

[1]Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus
[2]Scientific-Practical Center for Foodstuffs of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

RISK OF METABOLIC DISORDERS AT THE CONSUMPTION OF PALM OIL

The disturbances in the glutathione system and the development of oxidative stress were for the first time found in a subchronic animal model on Wistar albino rats receiving a physiologic dose of palm oil (5–10 % of the diet) Feeding with palm oil was found to reduce the liver prooxidant properties. as well as the liver detoxification properties, resulting in the sequestration of coenzyme A which contributes to the accumulation of fatty acid-β-oxidation products (probably in the form of acyl-CoA).

Keywords: palm oil, oxidative stress glutathione system, redox state, coenzyme A system, acyl-CoA.

Введение. Пальмовое масло (ПМ), натуральный продукт из плодов масличной пальмы, наряду с маслом ядер плодов (пальмоядровое масло) и красным ПМ (из красной мякоти плодов) составляют свыше 32 % от мирового производства растительных масел. Высокоэффективное и малозатратное производство ПМ (одно пальмовое дерево дает не менее 40 кг ПМ в год) неуклонно растет, достигая (преимущественно в Индонезии и Малайзии) десятков миллионов тонн в год (в 2014 г. произведено 56,6 млн т). Около 85 % производимого ПМ используется в пищевой промышленности. Состав и основные свойства нерафинированного ПМ могут быть охарактеризованы следующим образом: глицериды – 94 % (в том числе диглицериды – 5–8 %), свободные жирные кислоты (ЖК) – 3–5 %; неомыляемые компоненты – каротиноиды (500–700 ppm), токолы (600–1000 ppm), фитостеролы (300–500 ppm), сквален (200–500 ppm); йодное число – 51–53; индекс омыления – 198–200; точка плавления – 35–37 °С. Указанные параметры объясняют высокую технологичность ПМ в пищевой промышленности и широкое его применение в производстве продуктов питания [1, 2].

Необходимо иметь в виду, что ПМ является только одним из возможных пищевых ингредиентов, вырабатываемых на пальмовых плантациях. Помимо упомянутого пальмоядрового масла производятся пальмовый суперолеин и пальмовый стеарин (фракции ПМ), которые в свою очередь могут быть компонентами технологических масел. В этом случае речь идет о ПМ как композите при смешивании с другими растительными маслами – кокосовым, маслом какао, оливковым, соевым, рапсовым, маслом канолы, подсолнечным. К сожалению, только в последнее время начата маркировка доли ПМ в технологических смесях растительных масел.

Важнейшим элементом биоэффективности ПМ является жирнокислотный состав, который представляет смесь ЖК в соотношении: миристат (14:0) – 1,0–1,4 %; пальмитат (16:0) – 43–45, стеарат (18:0) – 4,0–4,6, олеат (18:1) – 37–41, линолеат (18:2) – 9,6–10,6, линоленоат (18:3) – <0,5 %. Жирнокислотный состав пальмоядрового масла существенно отличается: пальмитат – 8–9 %, олеат – 8–19, линолеат – 0,5–1 %, присутствие лауриновой и миристиновой кислот. Для сравнения приведем состав рапсового масла (РМ): пальмитат – 0,7 %, олеат – 28,0, линолеат – 13,9, линоленоат – 8,5 %, а также значительное количество эруковой кислоты (22:1) – до 33 % [3]. Кроме того, в продуктах пальмового дерева содержится значительное число менее распространенных ЖК.

Таким образом, доминирующими компонентами ПМ являются насыщенная ЖК – пальмитиновая и мононенасыщенная – олеиновая, обеспечивающие высокий энергетический потенциал продуктов и образование иных жирнокислотных компонентов в обмене веществ. Эссенциальные свойства ПМ проявляются за счет полиненасыщенных ЖК, в том числе и линолевой, концентрация которой в продукте соответствует ее содержанию в рапсовом или оливковом маслах, значительно уступая по этому компоненту подсолнечному, хлопковому и особенно соевому маслам. Кроме того, как указано выше, в ПМ относительно высокая концентрация каротиноидов, фитостеролов и других биологически активных компонентов [1–3].

В оценке неблагоприятных эффектов ПМ исходят из высокого уровня насыщенных ЖК, т. е. ожидаемые эффекты аналогичны таковым при потреблении других насыщенных жиров, что ведет к усилению риска, например, ишемической болезни сердца. Эпидемиологические исследования потребления ПМ подтверждают возможность накопления холестерина в липопротеидах низкой плотности, что характерно также для потребления транс-жиров. В отношении ПМ указанные аналогии достаточно убедительно не подтверждены [4, 5], однако известно, что продукты масличной пальмы могут накапливать тяжелые металлы и радионуклиды, что отражает ухудшение экологической ситуации в регионах доминирующего производства ПМ [6]. Это относится ко всем разновидностям тропических масел, что рассматривалось в более ранних публикациях [7–9]. Вместе с тем присутствие в ПМ значительного количества мононенасыщенной олеиновой кислоты обеспечивает его удовлетворительную эссенциальную активность, а также высокое содержание фитонутриентов [10].

В продолжение исследования возможных неблагоприятных эффектов ПМ [11] в настоящей работе обращено внимание на прооксидантно-антиоксидантный баланс ткани экспериментальных животных, длительно потребляющих ПМ, поскольку ЖК являются субстратами и эффекторами процессов, приводящих к патологической активации перекисного окисления липидов (ПОЛ). В последнее время получены доказательства, что некоторые пищевые полиненасыщенные липиды и их производные могут рассматриваться как факторы антиоксидантной защиты клеточных структур, являясь при этом субстратами окисления [12]. Кроме того, активирование ЖК через образование ацилированных производных кофермента А (ацил-КоА) является модулирующим фактором для гомеостаза системы КоА, что, вероятно, ведет к развитию синдрома «секвестирования» КоА [13].

Материалы (объекты) и методы исследования. ПМ Golden Palm (Малайзия) было предоставлено РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по продовольствию» и использовано в хроническом эксперименте наряду с РМ. Крысы контрольных и опытных групп (РМ и ПМ1) получали одинаковый по калорийности корм с учетом вносимых в рацион (5 %) растительных масел, что составило в начале эксперимента 59 ккал, а по достижении массы животного, равной 130 г, – 81 ккал. Группа ПМ2 получала ПМ в количестве 10 % от рациона. Прирост массы тела животных составил в группах РМ 233–242 %, в группах ПМ1 и ПМ2 – 229–254 %. Через месяц после кормления за 16 ч до окончания эксперимента у крыс отнимали корм, проводили декапитацию и производили забор крови (стабилизатор гепарин) для получения плазмы и эритроцитов, выделяли внутренние органы, которые замораживали в жидком азоте для последующей обработки. Определение перед декапитацией уровня глюкозы в крови животного с помощью глюкометра Bionime GM 100 показало, что в группах подопытных животных (ПМ1 и ПМ2) развивалась гипогликемия: 4,97 ± 0,13 ммоль/л у самцов и 5,57 ± 0,41 и 4,81 ± 0,37 ммоль/л у самок (в контроле 6,25 ± 0,16 ммоль/л).

Уровень фракций КоА оценивали высокочувствительным циклическим методом (McDougal с соавт. [14]), который включает арсенолиз ацетилфосфата, катализируемый КоА и фосфотрансацетилазой. Соотношение свободной формы КоА (КоА-SH) и ацетил-КоА в печени крыс осуществляли методом ВЭЖХ на приборе Agilent 1100/1200 (Agilent Technologies, США), используя хроматографическую колонку Zorbax SB-C_{18} 150×3 мм с размером частиц 3,5 мкм (Agilent Technologies, США).

Для определения восстановленного и окисленного глутатиона (GSH и GSSG) использовали реактив Эллмана (5,5′-дитиобис-2-нитробензойная кислота, ДТНБ) и осуществляли контроль цветного комплекса с максимумом поглощения 412 нм. При повышении pH до 10,5 происходил гидролиз –SS– групп до –SH, которые также образуют цветной комплекс с ДТНБ. Содержание GSH и GSSG рассчитывали по калибровочному графику (для эритроцитов – на грамм Hb, для тканей – на миллиграмм белка). Уровень общего глутатиона определяли как сумму уровней GSH и удвоенного значения его окисленной формы (Total GSH = GSH + 2GSSG), редокс-соотношение глутатиона – как соотношение его восстановленной и окисленной форм (GSH/GSSG). Редокс-потенциал глутатиона оценивали по уравнению Нернста: $E_h = E_0 + (2{,}3RT/nF)\log([GSSG]/[GSH]^2)$, где E_0 = –264 мВ – стандартный редокс-потенциал глутатиона при pH 7,4, n = 2 [15].

Активность глутатионредуктазы определяли спектрофотометрическим методом [16], а глутатионтрансферазы – по взаимодействию GSH и 1-хлор-1,4-динитробензола [17]. Активность изоферментов глутатионпероксидазы оценивали с помощью гидроперекиси третичного бутила (*t*-BOOH) [18] или перекиси водорода [19] с последующим определением GSH с ДТНБК.

Развитие окислительного стресса контролировали, оценивая содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-РП) в крови, и продуктов, реагирующих с N,N-диметил-*p*-фенилендиамином (ДФА-РП) в плазме крови, а также активность каталазы и белковых SH-групп в плазме крови. Определяли также содержание сульфгидрильных групп в белках печени и плазме крови на основании реакции с ДТНБ [20, 21]. Результаты предварительного исследования баланса GSH и GSSG показали их идентичность с данными, полученными ферментативным методом с глутатионредуктазой [22].

Результаты и их обсуждение. Показатели ПОЛ оценивали по содержанию ТБК- и ДФА-реагирующих продуктов в плазме и эритроцитах крови, а также по активности каталазы в крови животных.

У крыс-самцов опытной группы (ПМ1), получавших ПМ, отмечалось накопление ТБК-реагирующих продуктов в плазме крови и эритроцитах по сравнению с аналогичным показателем в группе РМ (табл. 1).

При измерении этого показателя в крови крыс-самок различий не выявлено. В то же время определены его высокие значения во всех опытных группах животных, получавших растительные масла, по сравнению с контролем при определении соединений, реагирующих с ДФА-РП, что указывает на рост суммарных продуктов окислительного стресса. О развитии последнего свидетельствует также рост активности каталазы (табл. 1).

При введении ПМ у крыс-самцов установлено снижение по сравнению с животными группы РМ степени поглощения эритроцитами красителя нильского голубого, что свидетельствует о снижении проницаемости эритроцитарной мембраны. Кроме того, на фоне потребления более высокой доли ПМ (10 %/100 г корма) в плазме крови крыс-самок выявлено увеличение концентраций среднемолекулярных соединений (триптофан-, тирозинсодержащих пептидов и непептидных компонентов).

Таблица 1. **Активность каталазы и уровень тиобарбитуратреагирующих продуктов (ТБК-РП) в плазме крови и гемолизате крыс-самцов при потреблении растительных масел (M ± SD, n = 6)**

Показатель	Каталаза, мкмоль/мин/г белка	ТБК-РП, плазма		ТБК-РП, гемолизат	
		мкмоль/мл плазмы	нмоль/мг белка	нмоль/мл взвеси эритроцитов	гемолизат, нмоль/г Hb
Контроль	2,36 ± 0,18	1,51 ± 0,22	0,016 ± 0,004	5,54 ± 0,58	0,015 ± 0,002
РМ	2,75 ± 0,19*	1,70 ± 0,19	0,021 ± 0,003	5,23 ± 0,39	0,015 ± 0,002
ПМ1	2,76 ± 0,24*	1,86 ± 0,21*#	0,021 ± 0,003*	6,51 ± 0,43*#	0,021 ± 0,003*#

Примечание. * – $p < 0{,}05$ по отношению к контролю; # – $p < 0{,}05$ по отношению к группе РМ. Те же обозначения в табл. 2–8, 10.

Измерение уровней GSH и GSSG в эритроцитах крови показало, что в группе крыс-самцов (ПМ1), получавших ПМ, и в группе крыс-самок, которым к рациону добавляли ПМ в двойном количестве (ПМ2), происходил рост GSSG, что приводило к снижению соотношения GSH/GSSG и редокс-потенциала глутатиона (табл. 2). В группе ПМ2 последний, однако, возрастал.

Т а б л и ц а 2. **Показатели системы глутатиона в эритроцитах крови крыс-самцов (M ± SD), мкмоль/г Hb**

Группа	GSH	GSSG	GSH + 2GSSG	GSH/GSSG	E_h, мВ
Контроль	4,16 ± 0,40	0,043 ± 0,008	4,24 ± 0,39	100,4 ± 24,3	–287,0 ± 4,2
РМ	4,41 ± 0,31	0,043 ± 0,005	4,50 ± 0,31	102,8 ± 12,3	–288,4 ± 2,0
ПМ1	4,22 ± 0,41	0,052 ± 0,007*#	4,32 ± 0,41	81,5 ± 10,7#	–284,8 ± 2,5#

В группах крыс-самцов, получавших рапсовое или пальмовое масло, выявлено возрастание H_2O_2- и *t*-BOOH-метаболизирующих изоферментов глутатион-пероксидаз в плазме крови. У крыс-самок на фоне двойной дозы ПМ установлено возрастание глутатион(*t*-BOOH)-пероксидазной активности в плазме по сравнению с таковой в группе РМ: активность *t*-BOOH-метаболизирующего изофермента в эксперименте на самцах в группах контроля (РМ и ПМ1) составила 369,4 ± 44,5; 363,9 ± 42,0; 467,1 ± 46,3 мкмоль GSH/мин/г Hb, а в эксперименте на самках – 519,7 ± 65,2; 491,5 ± 64,9; 532,2 ± 57,5; 600,7 ± 48,1 мкмоль GSH/мин/г Hb соответственно.

Таким образом, активность селенозависимой (*t*-BOOH)-метаболизирующей глутатионпероксидазы, что является показателем накопления продуктов окислительного стресса, значительно возрастает при потреблении ПМ. Это особенно заметно у самцов, тогда как у самок увеличение эритроцитарного фермента наблюдалось только при потреблении повышенной дозы ПМ. Измерение активности ферментов аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы в плазме крови крыс не выявило различий в контрольных и опытных группах животных (данные не приводятся).

На фоне потребления РМ в эритроцитах крови крыс-самок и самцов наблюдалось изменение фракций глутатиона в сторону окисленной формы, а также уменьшение общей формы глутатиона со снижением соотношения GSH/GSSG. Эти изменения были выражены в меньшей степени у животных, которые потребляли ПМ, однако у самок соотношение GSH/GSSG также значительно снизилось при потреблении ПМ. В обеих группах подопытных животных показатель редокс-статуса глутатиона эритроцитов возрастал. Аналогичный эффект был выражен при потреблении растительного масла, но только в группе самцов (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. **Показатели системы глутатиона и его редокс-потенциал (E_h) в эритроцитах крови белых крыс при потреблении растительных масел (M ± SD, *n* = 10)**

Показатель	Контроль	РМ^x	ПМ^x
Самцы			
GSH, мкмоль/г Hb	5,17 ± 0,55	4,68 ± 0,41*	4,77 ± 0,38
GSSG, мкмоль/г Hb	0,053 ± 0,010	0,067 ± 0,013*	0,056 ± 0,009
GSH + 2GSSG, мкмоль/г Hb	5,28 ± 0,42	4,82 ± 0,42*	4,88 ± 0,39
GSH/GSSG	99,4 ± 15,05	72,1 ± 15,2*	86,45 ± 11,69*
E_h, мВ	–331,91 ± 2,2	–326,43 ± 2,74*	–329,13 ± 2,18*#
Самки			
GSH, мкмоль/г Hb	5,60 ± 0,15	5,39 ± 0,20	5,37 ± 0,27
GSSG, мкмоль/г Hb	0,059 ± 0,016	0,061 ± 0,010	0,071 ± 0,012
GSH + 2GSSG, мкмоль/г Hb	5,69 ± 0,15	5,51 ± 0,20*	5,51 ± 0,26*
GSH/GSSG	99,51 ± 15,6	91,09 ± 16,03	77,15 ± 13,66*#
E_h, мВ	–332,9 ± 3,8	–331,6 ± 2,2	–329,1 ± 2,2*#

П р и м е ч а н и е. В группах, обозначенных РМ^x и ПМ^x, в отличие от РМ, ПМ1и ПМ2 потребление указанных растительных масел составило 5 г к 100 г рациона. То же в табл. 4, 5, 7, 8, 10.

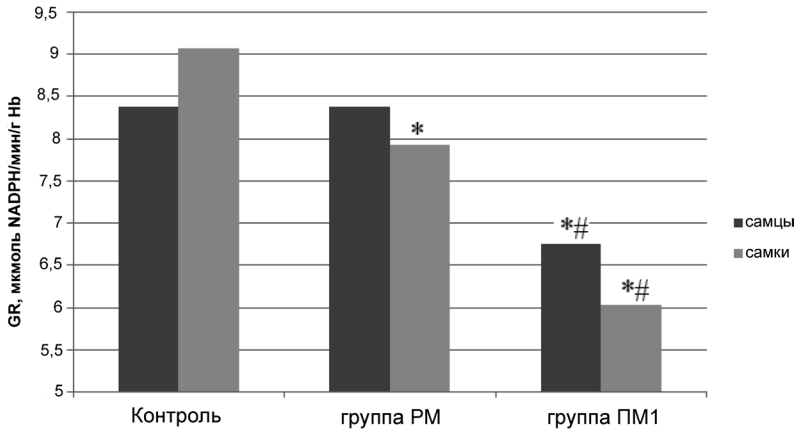


Рис. 1. Уровень активности глутатионредуктазы в эритроцитах белых крыс, потребляющих растительные масла (M ± SD, n = 10). * – $p < 0,05$ по отношению к контролю; # – $p < 0,05$ по отношению к группе РМ

Fig. 1. Level of glutathione peroxidase activity in erythrocytes of albino rats consuming vegetable oils (M ± SD, n = 10). * – $p < 0.05$ compared to the control group; # – $p < 0.05$ compared to the PM group

Активность глутатионредуктазы в эритроцитах крови опытных животных снижалась на фоне потребления ПМ. У самок данное снижение (в 1,5 раза по отношению к контролю) было более выраженным (рис. 1). Этот эффект при назначении РМ был менее заметен и наблюдался только у самок.

При инкубации катионных красителей метиленового синего и нильского голубого с эритроцитами установлено возрастание степени их абсорбции клетками красителей у крыс-самцов на фоне длительного приема ПМ и в отношении нильского голубого при потреблении РМ, что свидетельствует о возможном нарушении проницаемости липидного слоя эритроцитарной мембраны. Однако у крыс-самок данные показатели оставались на уровне контроля при потреблении РМ, причем абсорбция метиленового синего эритроцитами снижалась у животных, потребляющих ПМ (табл. 4).

Таблица 4. **Показатель сорбции красителя метиленового синего и нильского голубого эритроцитами крови белых крыс, потребляющих растительные масла (n = 10), %**

Группа	Краситель метиленовый синий		Краситель нильский голубой	
	Самцы	Самки	Самцы	Самки
Контроль	76,37 ± 3,49	70,84 ± 8,35	83,46 ± 1,36	83,70 ± 1,91
РМ[x]	76,95 ± 3,66	70,17 ± 8,98	84,77 ± 1,09[*]	84,61 ± 1,70
ПМ[x]	81,05 ± 1,49[*#]	60,59 ± 9,06[*#]	85,34 ± 1,40[*]	83,93 ± 1,36

Увеличенный жирнокислотный компонент рациона животных оказал существенное воздействие на тиол-дисульфидный статус печени подопытных животных, у которых отмечался значительный дисбаланс тиоловых и дисульфидных групп белков. Как следует из табл. 5, уровень белковых сульфгидрильных групп возрастал у самцов и самок в обеих экспериментальных группах. При этом снижение уровня дисульфидных групп приводило к значительному росту соотношения SH/SS белковых компонентов, что указывало на напряжение окислительно-восстановительных процессов в начальной стадии окислительного стресса.

Исследование системы глутатиона и его редокс-статуса в печени подопытных животных при введении в рацион рапсового или пальмового масла показало, что у крыс-самцов уровень GSH в группе ПМ достоверно снижался по сравнению с контролем. Показатель концентрации GSSG оказался примерно на одном уровне (для РМ и ПМ1), но был несколько ниже по сравнению с контролем. Уровень соотношения GSH/GSSG показал, что при добавлении в рацион РМ этот показатель незначительно увеличивается (относительно контроля), а в группе ПМ1 имеет тенденцию к снижению. Уровень общего глутатиона при введении РМ был определен в пределах контрольной величины, тогда как при потреблении ПМ он значительно и достоверно снижался по отношению к контролю (табл. 6).

Таблица 5. **Содержание тиоловых и дисульфидных групп в печени крыс, потребляющих растительные масла (M ± SD, *n* = 10)**

Группа	Белковые SH-группы	Дисульфидные группы белков	SH/SS
Самки			
мкмоль/г ткани			
Контроль	6,54 ± 0,29	1,83 ± 0,06	3,58 ± 0,48
РМ[x]	7,17 ± 0,43[*]	1,57 ± 0,17[*]	4,61 ± 0,56[*]
ПМ[x]	7,27 ± 0,45[*]	1,68 ± 0,13[*]	4,35 ± 0,41[*]
нмоль/мг белка			
Контроль	32,69 ± 2,07	8,92 ± 0,33	3,58 ± 0,48
РМ[x]	40,11 ± 2,90[*]	8,78 ± 0,31	4,61 ± 0,56[*]
ПМ[x]	35,52 ± 2,47[#]	8,20 ± 0,44[*]	4,35 ± 0,41[*]
Самцы			
мкмоль/г ткани			
Контроль	5,77 ± 0,30	1,53 ± 0,21	3,84 ± 0,25
РМ[x]	6,27 ± 0,38[*]	1,40 ± 0,17	4,50 ± 0,18[*]
ПМ[x]	6,42 ± 0,11[*]	1,29 ± 0,10[*]	5,02 ± 0,38[*]
нмоль/мг белка			
Контроль	29,93 ± 2,52	7,93 ± 0,37	3,84 ± 0,25
РМ[x]	32,28 ± 3,81	6,59 ± 0,58	4,50 ± 0,18[*]
ПМ[x]	30,13 ± 1,89	6,66 ± 0,49	5,02 ± 0,38[*]

Исследование тех же показателей у самок выявило, что уровень GSH при добавлении в рацион РМ достоверно увеличивается по сравнению с контролем, а в группах ПМ1 и ПМ2 он в пределах контрольной величины, но достоверно снижен по сравнению с таковым в группе РМ. Значение GSSG в группе животных, получавших РМ, сохранялось примерно на одном уровне с контрольной группой, хотя несколько превышало его. В то же время показатели GSSG в печени животных, относящихся к группам ПМ1 и ПМ2, находились практически на одном уровне, но при этом были достоверно выше контрольной величины. Расчет соотношения GSH/GSSG показал, что этот показатель при потреблении РМ несколько увеличивался по сравнению с контролем, а при добавлении в рацион животных ПМ – снижался по отношению к контролю, причем для группы ПМ2 это снижение было достоверным. Уровни общего глутатиона в печени самок белых крыс в группах ПМ1 и ПМ2 сохранялись в пределах контрольных значений и существенно не отличались друг от друга, а для группы с потреблением РМ этот показатель имел тенденцию к увеличению (табл. 6).

Таблица 6. **Показатели редокс-статуса глутатиона в печени белых крыс при добавлении к корму растительных масел (M ± SD, *n* = 7)**

Группа	GSH, нмоль/мг белка	GSSG, нмоль/мг белка	GSH/GSSG	GSH + 2GSSG, нмоль/мг белка
Самцы				
Контроль	12,54 ± 2,45	0,21 ± 0,046	64,38 ± 28,46	12,96 ± 2,39
РМ	12,24 ± 1,21	0,18 ± 0,040	69,02 ± 15,15	12,61 ± 1,19
ПМ1	9,49 ± 1,58[*#]	0,19 ± 0,042	53,22 ± 18,39	9,87 ± 1,51[*#]
Самки				
Контроль	14,33 ± 1,02	0,22 ± 0,03	67,63 ± 14,50	14,77 ± 0,98
РМ	17,08 ± 2,76[*]	0,26 ± 0,08	70,98 ± 20,04	17,59 ± 2,85
ПМ1	13,74 ± 2,33[#]	0,32 ± 0,12[*]	50,59 ± 24,22	14,38 ± 2,24[#]
ПМ2	13,75 ± 2,00[#]	0,30 ± 0,08[*]	48,09 ± 13,04[*]	14,36 ± 2,08[#]

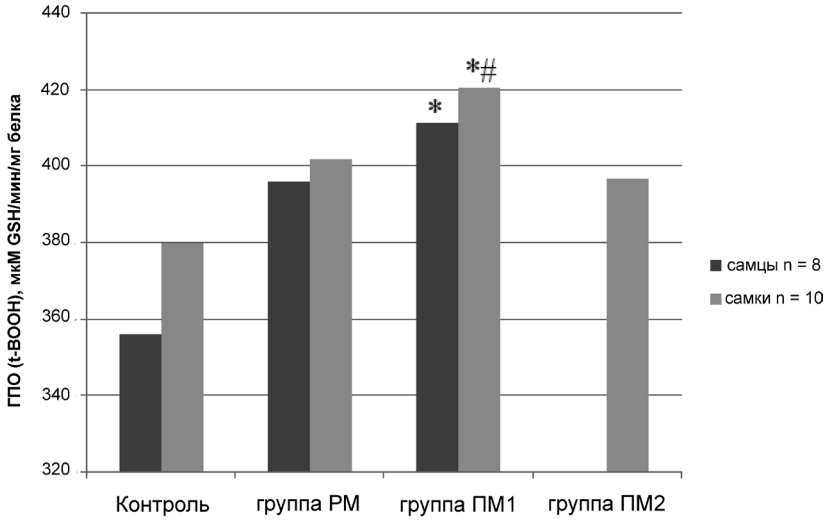


Рис. 2. Активность ГПО в печени белых крыс, потребляющих растительные масла (M ± SD, n = 8–10).
* – $p < 0{,}05$ по отношению к контролю; $^{\#}$ – $p < 0{,}05$ по отношению к группе РМ

Fig. 2. Activity of GPO in the liver of albino rats consuming vegetable oils (M ± SD, n = 8–10).
* – $p < 0.05$ compared to the control group; $^{\#}$ – $p < 0.05$ compared to the PM group

В печени подопытных крыс-самцов и самок установлена активизация одного из основных ферментов метаболизма глутатиона – глутатионпероксидазы на фоне приема ПМ, тогда как у крыс-самок группы ПМ2 данный показатель оставался на уровне значений контрольной группы. При потреблении РМ имела место тенденция к активизации фермента (рис. 2).

Приведенные результаты показывают, что система глутатиона печени экспериментальных животных, которые потребляли рацион с увеличенным количеством ПМ, претерпевает существенное напряжение и, по всей видимости, истощается (см. табл. 6). Этот весьма важный феномен свидетельствует о значительном снижении антиоксидантного потенциала печени как важнейшего детоксикационного органа организма млекопитающих и может быть критическим механизмом неблагоприятного эффекта длительного потребления ПМ. Соотношение ключевых факторов антиоксидантной защиты и процессов детоксикации предопределяется редокс-статусом системы глутатиона [23].

В связи с этим нами проведено углубленное исследование редокс-статуса системы глутатиона печени на основе высокоспецифичного метода анализа фракций глутатиона. Эти результаты в целом подтвердили рассмотренные выше данные по статусу системы глутатиона у животных, потребляющих увеличенный жирнокислотный компонент рациона. В частности, в печени крыс-самок введение растительных масел оказывало достоверное влияние на показатели системы глутатиона. В группе крыс-самок с потреблением РМ возрастал уровень GSH и его общий пул. При потреблении ПМ уровень GSH снижался, что сопровождалось падением общего глутатиона и соотношения GSH/GSSG, причем активность глутатионредуктазы в печени самок снижалась, а активность глутатионтрансферазы увеличивалась относительно контроля (табл. 7, 8).

Следовательно, потребление ПМ у самок также приводило к изменению активности глутатион-метаболизирующих ферментов в печени, что проявлялось ростом глутатионтрансферазы на фоне снижения активности глутатионредуктазы в печени крыс-самок. Таким образом, показатели фракции глутатиона у крыс-самцов не изменялись, а у крыс-самок уровни восстановленного и общего глутатиона в печени имели тенденцию к уменьшению. При потреблении РМ эти изменения носили противоположный характер. Активность глутатионтрансферазы в обеих экспериментальных группах характеризовалась увеличением при потреблении РМ и относительным снижением при потреблении ПМ (табл. 7, 8).

Таблица 7. **Показатели системы глутатиона в печени белых крыс, потребляющих растительные масла (M ± SD, *n* = 8)**

Группа	GSH, нмоль/мг белка	GSSG, нмоль/мг белка	GSH/GSSG	GSH+2GSSG, нмоль/мг белка
Самцы				
Контроль	11,05 ± 3,02	0,45 ± 0,04	24,43 ± 7,22	11,95 ± 3,03
РМ[x]	11,59 ± 1,63	0,45 ± 0,07	26,21 ± 4,03	12,48 ± 1,72
ПМ[x]	9,87 ± 2,83	0,41 ± 0,07	25,95 ± 12,18	10,69 ± 2,73
Самки				
Контроль	15,31 ± 1,38	0,32 ± 0,09	51,38 ± 16,11	15,96 ± 1,24
РМ[x]	18,30 ± 2,16[*]	0,34 ± 0,05	54,93 ± 8,87	18,97 ± 2,18[*]
ПМ[x]	13,00 ± 1,28[*#]	0,30 ± 0,05	44,21 ± 7,75[#]	13,60 ± 1,31[*#]

Таблица 8. **Активность глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы в печени белых крыс, потребляющих растительные масла (M ± SD, *n* = 10)**

Группа	GR, нмоль NADPH/мин/мг белка	GT, мкМ ХДНБ/мин/мг белка
Самцы		
Контроль	62,8 ± 1,2	332,0 ± 25,1
РМ[x]	66,7 ± 5,1	358,9 ± 1,6[*]
ПМ[x]	64,6 ± 6,2	303,1 ± 19,8[#]
Самки		
Контроль	72,4 ± 5,5	346,2 ± 6,1
РМ[x]	73,4 ± 3,0	377,5 ± 27,7[*]
ПМ[x]	67,9 ± 4,5[#]	369,0 ± 21,7[*]

Особенности потребления насыщенной жирнокислотной диеты у млекопитающих предполагают повышенную утилизацию ЖК после их активации в форме ацильных производных КоА. Можно предположить, что различие в жирнокислотном составе рапсового и пальмового масел может повлечь за собой нарушение метаболизма промежуточных продуктов ацил-КоА, привести к возникновению фракции труднометаболизируемых ацил-КоА и синдрома «секвестирования» КоА и сопровождаться падением эффективной концентрации свободного КоА. Этот патологический синдром детерминируется как CASTOR (Coenzyme A sequestration, toxicity of redistribution) [13] и может быть определен как доминирующий при патологическом нарушении метаболизма ацил-КоА [13, 24].

Исследование структуры КоА и его ацилов циклическим ферментативным методом в печени животных, получавших в течение месяца растительные масла, показало достоверное увеличение фракции длинноцепочечных ацил-КоА (ДЦА-КоА) у самцов и самок, получавших ПМ, и сниженный уровень свободной формы КоА-SH в печени крыс-самок (табл. 9).

Таблица 9. **Влияние рапсового и пальмового масел на структуру фонда КоА в печени крыс, нмоль/г ткани**

Показатель	Контроль	РМ	ПМ1
Самцы			
Общий КоА	362 ± 15	357 ± 17	378 ± 16
Кислоторастворимый КоА	291 ± 16	276 ± 15	286 ± 14
Короткоцепочечные ацилы КоА	141 ± 8	132 ± 10	139 ± 7
Свободный КоА	150 ± 8	143 ± 11	147 ± 10
ДЦА-КоА	71 ± 4	83 ± 10	92 ± 8[*]
Свободный КоА/общий КоА	0,414	0,400	0,388
ДЦА-КоА/общий КоА	0,196	0,232	0,243

Окончание табл. 9

Показатель	Контроль	РМ	ПМ1	ПМ2
Самки				
Общий КоА	352 ± 16	348 ± 15	336 ± 17	329 ± 21
Кислоторастворимый КоА	278 ± 16	267 ± 15	249 ± 11	239 ± 15
Корткоцепочечные ацилы КоА	131 ± 8	129 ± 8	123 ± 6	122 ± 9
Свободный КоА	147 ± 12	138 ± 8	126 ± 7	117 ± 7*
ДЦА-КоА	74 ± 6	81 ± 7	87 ± 9	90 ± 6*
Свободный КоА/общий КоА	0,418	0,396	0,375	0,355
ДЦА-КоА/общий КоА	0,210	0,232	0,259	0,273

Примечание. * – $p < 0,05$ относительно контроля.

Выявленный эффект накопления ДЦА-КоА, вероятно, отражает образование труднометаболизируемых ацил-КоА при потреблении ПМ и относительное увеличение фракций ДЦА-КоА в структуре общего КоА. Это подтверждается увеличением соотношения ДЦА-КоА/общий КоА (максимального в группах ПМ). Наиболее важным обстоятельством, сопутствующим снижению метаболизирующей ацил-КоА активности, является падение уровня свободного КоА, имеющее важнейшее регуляторное и кофакторное значение для метаболизма [24]. Наблюдается значительное уменьшение этой фракции КоА, носящее дозозависимый характер от уровня потребления ПМ у крыс-самок, что подтверждается падением соотношения свободного и общего КоА (табл. 9).

Для подтверждения возможности развития феномена «секвестирования» при потреблении ПМ проведено дополнительное исследование основных фракций КоА в ткани печени с использованием метода ВЭЖХ, которое выявило достоверное снижение КоА-SH и ацетил-КоА в группах крыс, получавших ПМ (табл. 10).

Таблица 10. **Содержание КоА-SH и ацетил-КоА в печени животных, получавших в рационе РМ^x и ПМ^x (M ± SEM, n = 4), нмоль/г ткани**

Группа	КоА-SH	Ацетил-КоА	Ацетил-КоА/КоА-SH
Самцы			
Контроль	89,2 ± 9,5	56,9 ± 4,1	0,64
РМ^x	106,8 ± 3,4	55,3 ± 2,1	0,52
ПМ^x	81,4 ± 3,0$^{\#}$	43,6 ± 1,3$^{*\#}$	0,54
Самки			
Контроль	91,5 ± 2,0	60,6 ± 5,0	0,66
РМ^x	106,9 ± 6,6	57,9 ± 6,2	0,54
ПМ^x	67,0 ± 3,2$^{*\#}$	53,6 ± 2,1	0,8

Судя по полученным данным, снижение метаболически активной формы свободного КоА в печени отражает особенности метаболизма ацил-КоА и реакцию системы биосинтеза КоА при потреблении рапсового и пальмового масел. Соотношение ацетил-КоА/КоА-SH при потреблении физиологических ЖК в нормальных условиях имеет тенденцию к уменьшению [25]. Однако в нашем эксперименте, по крайней мере в подопытной группе самок, это соотношение менялось в противоположном направлении. Это указывает на то, что процесс метаболизма ацил-КоА при потреблении ПМ не является физиологическим. Фактически развивается состояние функциональной недостаточности важнейшего кофактора метаболических процессов – КоА-SH. Функциональный дефицит кофермента косвенно подтверждается возникновением гипогликемии у животных, потреблявших ПМ [24].

Заключение. Таким образом, у подопытных животных (белые крысы линии Wistar) в результате 4-недельного потребления ПМ в количестве 5–10 %/100 г рациона наблюдались проявления окислительного стресса, нарушения системы глутатиона печени со снижением ее антиоксидантного

и детоксикационного потенциала и синдром «секвестирования» КоА, предполагающий аккумулирование труднометаболизируемых ацил-КоА производных – метаболитов ПМ. Полученные данные указывают на неблагоприятный эффект ПМ в условиях его хронического потребления в количестве, соответствующем физиологической дозе жиров в питании млекопитающих. Можно предположить, что накопление продуктов окисления ЖК в организме при потреблении ПМ может инициировать предболезненное состояние, характерное для генетически детерминированных нарушений метаболизма ацил-КоА [13, 24].

Список использованных источников

1. О'Брайн, Р. Жиры и масла. Производство, состав и свойства, применение / Р. О'Брайн. – СПб.: Профессия, 2007. – С. 65–69.

2. Щербаков, В. Г. Биохимия и товароведение масличного сырья / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов. – М.: Колос, 2012. – 392 с.

3. Денисова, С. А. Пищевые жиры / С. А. Денисова, Т. В. Пилипенко. – М.: Экономика, 1998. – 79 с.

4. Odia, O. Palm oil and the heart: a review / O. Odia, S. Ofori, O. Maduka // World J. Cardiol. – 2015. – Vol. 7, N 3. – P. 144–149.

5. Olafisoye, O. B. Trace Elements and Radionuclides in Palm Oil, Soil, Water and Leaves from Oil Palm Plantations / O. B. Olafisoye, O. O. Oguntibeju, O. A. Osibote // Critical Rev. in Food Sci. and Nutr. – 2015. – Vol. 55. – P. 1–89.

6. Palm oil and blood lipid-related markers of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of dietary intervention trials / E. Fattore [et al.] // Am. J. Clin. Nutr. – 2014. – Vol. 99. – P. 1331–1350.

7. Enig, M. G. Palm oil and the anti-tropical campaign: good news towards counteracting a decade's worth of damage / M. G. Enig // Commodity of the past, today and the future: Proc. Int. oil palm conf. – 1998. – P. 115–126.

8. Cottrell, R. C. Introduction: nutritional aspects of palm oil / R. C. Cottrell // Am. J. Clin. Nutr. – 1991. – Vol. 53 (Suppl.). – P. 989S–1009S.

9. Sambanthamurthi, R. Chemistry and biochemistry of palm oil / R. Sambanthamurthi, K. Sundram, Y. Tan // Progr. Lipid Res. – 2000. – Vol. 39. – P. 507–558.

10. Медведев, О. С. Современные представления о возможном влиянии пальмового масла на здоровье человека / О. С. Медведев, Н. А. Медведева // Вопр. питания. – 2016. – № 1. – С. 5–18.

11. Экспериментальные исследования побочных эффектов пальмового масла / В. А. Кульчицкий [и др.] // Пищевая промышленность: наука и технологии. – 2015. – № 4 (30). – С. 17–25.

12. Буко, В. У. Антиоксидантные свойства некоторых липидов и их производных // Питание и обмен веществ. – Минск: Беларуская навука, 2016. – Вып. 4. – С. 9–20.

13. Hereditary and acquired diseases of acyl-coenzyme A metabolism / G. A. Mitchell [et al.] // Mol. Genet. Metab. – 2008. – Vol. 94. – P. 4–15.

14. McDougal, D. B. A spectrophotometric cycling assay for reduced coenzyme A and its esters in small amounts of tissue / D. B. McDougal, R. V. Dargar // Anal. Biochem. – 1979. – Vol. 97, N 1. – P. 103–115.

15. Robyt, J. F. Reaction of protein disulfide groups with Ellman's reagent: a case study of the number of sulfhydryl and disulfide groups in Aspergillus oryzae alfa-amylase, papain and lysozyme / J. F. Robyt, R. J. Ackerman, C. G. Chittenden // Arch. Biochem. – 1971. – Vol. 147. – P. 262–269.

16. Carlberg, I. Glutathione reductase / I. Carlberg, B. Mannervik // Meth. Enzymol. – 1985. – Vol. 13. – P. 484–490.

17. Rice-Evans, C. A. Techniques in free radical research / C. A. Rice-Evans, A. T. Diplock, M. C. R. Symons. – Amsterdam: Elsevier, 1991. – 291 p.

18. Моин, В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. М. Моин // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С. 724–727.

19. Кругликова, А. А. Глутатионпероксидазная и глутатионредуктазная активность печени крыс после введения селенита натрия / А. А. Кругликова, Ц. М. Штутман // Укр. биохим. журн. – 1976. – Т. 48, № 2. – С. 223–228.

20. Веревкина, И. А. Колориметрический метод определения SH-групп и SS-связей в белках при помощи 5,5-дитиобис(2-нитробензойной) кислоты / И. А. Веревкина, А. И. Точилкин, Н. А. Попова // Современные методы в биохимии / под ред. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 223–231.

21. Северин, С. Е., Определение числа сульфгидрильных групп с помощью реактива Эллмана / С. Е. Северин, Г. А. Соловьева // Практикум по биохимии. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – С. 160–161.

22. Akerboom, T. P. M. Assay for glutathione and glutathione mixed disulfides in biological samples / T. P. M. Akerboom, H. Sies // Meth. Enzymol. – 1981. – Vol. 77. – P. 373–382.

23. Мартинович, Г. Г. Окислительно-восстановительные процессы в клетках / Г. Г. Мартинович, С. Н. Черенкевич. – Минск: БГУ, 2008. – 159 с.

24. Мойсеёнок, А. Г. Биосинтез коферментной формы пантотеновой кислоты: новые механизмы, участие в регуляции метаболизма и физиологических функций / А. Г. Мойсеёнок, В. А. Гуринович, С. Н. Омельянчик // Питание и обмен веществ. – Минск: Беларуская навука, 2016. – Вып. 4. – С. 204–238.

25. Мойсеёнок, А. Г. Пантотеновая кислота (биохимия и применение витамина) / А. Г. Мойсеёнок. – Минск: Наука и техника, 1980. – 264 с.

References

1. O'Brien, R. (2007) "Fats and oils: formulating and processing for applications", *Professiya*, StPb, RU, pp. 65-69.

2. Shcherbakov, V. G. and Lobanov, V. G. (2012) *Biokhimiya i tovarovedenie maslichnogo syr'ya* [Biochemistry and merchandising of oil raw materials], Kolos, Moscow, RU.

3. Denisova, S. A. and Pilipenko, T. V. (1998) *Pishchevye zhiry* [Edible oils], Ekonomik, Moscow, RU.

4. Odia, O., Ofori, S. and Maduka, O. (2015) "Palm oil and the heart: a review", *World Journal of Cardiology,* vol. 7, no. 3, pp. 144-149.

5. Olafisoye, O. B., Oguntibeju, O. O. and Osibote, O. A. (2015) "Trace elements and radionuclides in palm oil, soil, water and leaves from oil palm plantations", *Critical Review in Food Science and Nutrition*, vol. 55, pp. 1-89.

6. Fattore, E., Bosetti, C., Brighenti, F., Agostoni, C. and Fattore, G. (2014) "Palm oil and blood lipid-related markers of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of dietary intervention trials", *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 99, pp. 1331-1350.

7. Enig, M. G. (1998) "Palm oil and the anti-tropical campaign: good news towards counteracting a decade's worth of damage", *International oil palm conference. Commodity of the past, today and the future*: *Proceedings*, pp. 115-126.

8. Cottrell, R. C. (1991) "Introduction: nutritional aspects of palm oil", *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 53 (Suppl.), pp. 989S-1009S.

9. Sambanthamurthi, R., Sundram, K. and Tan, Y. (2000) "Chemistry and biochemistry of palm oil", *Progress in Lipid Research*, vol. 39, pp. 507-558.

10. Medvedev, O. C. and Medvedeva, N. A. (2016) "Modern conceptions about the possible impact of palm oil on human health", *Voprosy Pitaniya* [Problems in Nutrition], no 1, pp. 5-18.

11. Kulchicki, V. A., Lovkis, Z. V., Moiseenok, A. G. and Morgunova, E. M. (2015) "Pilot research of palm-oil side effects", *Pishchevaya promyshlennost': nauka i tekhnologii* [Food industry: Science and technologies], vol. 30, no. 4, pp. 17-25.

12. Buko, V. U. (2016) "Antioxidant properties of some lipids and their derivatives", *Pitanie i obmen veshchestv* [Nutrition and Metabolism], Belaruskaya navuka, Minsk, BY, no. 4, pp. 9-20.

13. Mitchell, G. A., Gauthier, N., Lesimple, A., Wang, S. P., Mamer, O. and Qureshi, I. (2008) "Hereditary and acquired diseases of acyl-coenzyme A metabolism", *Molecular Genetics and Metabolism*, vol. 94, pp. 4-15.

14. McDougal, D. B. and Dargar, R. V. (1979) "A spectrophotometric cycling assay for reduced coenzyme A and its esters in small amounts of tissue", *Analytical Biochemistry*, vol. 97, no. 1, pp. 103-115.

15. Robyt, J. F., Ackerman, R. J. and Chittenden, C. G. (1971) "Reaction of protein disulfide groups with Ellman's reagent: a case study of the number of sulfhydryl and disulfide groups in Aspergillus oryzae alfa-amylase, papain and lysozyme", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 147, pp. 262-269.

16. Carlberg, I. and Mannervik, B. (1985) "Glutathione reductase", *Methods of Enzymology*, vol. 13, pp. 484-490.

17. Rice-Evans, C. A., Diplock A. T. and Symons, M. C. R. (1991) *Techniques in free radical research,* Elsevier, Amsterdam, NL.

18. Moin, V. M. (1986) "A simple and specific method for determining glutathione peroxidase activity in erythrocytes", *Laboratornoe delo* [Laboratory case], no. 12, pp. 724-727.

19. Kruglikova, A. A. and Shtutman, Ts. M. (1976) "Glutathione peroxidase and glutathione reductase activity in the rat liver after the administration of sodium selenite», *Ukrainskii biokhimicheskii zhurnal* [Ukrainian Biochemical Journal], vol. 48, no. 2, pp. 223-228.

20. Veryovkina, I. A., Tochilkin, A. I. and Popova, N. A. (1977) "Colorimetric method for determination of SH groups and SS bonds in proteis using 5,5-dithiobis (2-nitrobenzoic) acid", *Sovremennye metody v biokhimii* [Modern techniques in biochemistry], Medicine, Moscow, RU, pp. 223-231.

21. Severin, S. Ye. and Solov'eva, G. A. (1989) "Determination of the number of sulfhydryl groups by Ellman's reagent", *Praktikum po biokhimii* [Practical guidelines in biochemistry], Moscow State University, Moscow, RU, pp. 160-161.

22. Akerboom, T. P. M. and Sies, H. (1981) "Assay for glutathione and glutathione mixed disulfides in biological samples", *Methods in Enzymology*, vol. 77, pp. 373-382.

23. Martinovich, G. G. and Cherenkevich, S. N. (2008) *Okislitel'no-vosstanovitel'nye protsessy v kletkakh* [Oxidative-reductive processes in cells], Belarusian State University, Minsk, BY.

24. Moiseenok, A. G., Gurinovich, V. A. and Omel'yanchik, S. N. (2016) "Biosynthesis of pantothenic acid coenzyme forms: new mechanisms, participation in regulations of metabolism and physiological functions", *Pitanie i obmen veshchestv* [Nutrition and Metabolism], Belaruskaya navuka, Minsk, BY, no. 4, pp. 204-238.

25. Moiseenok, A. G. (1980) *Pantotenovaya kislota (biokhimiya i primenenie vitamina)* [Pantothenic acid (biochemistry and application of the vitamin], Nauka i tekhnika, Minsk, BY.

Информация об авторах

Гуринович Валерий Александрович – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК-50, 230030, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: gva77@list.ru

Information about the authors

Gurinovich Valery Alexandrovich – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (BLK-50, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: gva77@list.ru

Омельянчик Софья Николаевна – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК-50, 230030, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: office@bioch.basnet.by

Лукиенко Елена Петровна – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК-50, 230030, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: office@bioch.basnet.by

Бородина Татьяна Александровна – науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК-50, 230030, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: office@bioch.basnet.by

Моргунова Елена Михайловна – канд. техн. наук, зам. генерального директора по качеству и стандартизации. Научно-практический центр НАН Беларуси по продовольствию (ул. Козлова, 29, 220037, Минск, Республика Беларусь). E-mail: info@belproduct.com

Мойсеёнок Андрей Георгиевич – чл.-кор. НАН Беларуси, д-р биол. наук, профессор, зав. отделом витаминологии и нутрицевтики. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК-50, 230030, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: andrey.moiseenok@tut.by

Для цитирования

Риски метаболических нарушений при потреблении пальмового масла / В. А. Гуринович [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – № 4. – С. 77–88.

Omelyanchik Sofiya Nikolaevna – Ph. D. (Med.), Leading Researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (BLK-50, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: office@bioch.basnet.by

Lukienko Elena Petrovna – Ph. D. (Med.), Senior Researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (BLK-50, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: office@bioch.basnet.by

Borodina Tatiana Aleksandrovna – Researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (BLK-50, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: office@bioch.basnet.by

Morgunova Elena Mikhailovna – Ph. D. (Tech.), Deputy-Director in charge for quality and standardization Scientific-Practical Center for Foodstuffs of the National Academy of Sciences of Belarus (29, Kozlova Str., 220037, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: info@belproduct.com

Moiseenok Andrey Georgievich – Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Division of Vitaminology and Nutriceutics. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (BLK-50, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: andrey.moiseenok@tut.by

For citation

Gurinovich V. A., Omelyanchik S. N., Lukienko Ye. P., Borodina T. A., Morgunova E. M., Moiseenok A. G. Risk of metabolic disorders at the consumption of palm oil. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series*, 2016, no. 4, pp. 77–88.

ISSN 1814-6023 (print)
УДК 616.728.2-007.17-06-089.28

Поступила в редакцию 11.07.2016
Received 11.07.2016

А. Н. Волошенюк[1], Н. С. Сердюченко[2], М. В. Комаровский[3], П. В. Воробей[3]

[1]Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь
[2]Национальная академия наук Республики Беларусь, Минск, Республика Беларусь
[3]Городская клиническая больница скорой медицинской помощи, Минск, Республика Беларусь

ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЕ ПРИ ТЯЖЕЛЫХ ТИПАХ ДИСПЛАЗИИ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА

Представлена концепция выбора тотального эндопротезирования тазобедренного сустава при тяжелом диспластическом коксартрозе у взрослых (тип 3–4 по GROVE). Критерием выбора оперативного вмешательства являлось взаимоотношение элементов тазобедренного сустава, оцениваемое в ходе предоперационного планирования. На основе этих данных проведен анализ эндопротезирования у 39 пациентов (48 эндопротезирований). Установлено преимущество двухэтапного протезирования коксартроза при одностороннем укорочении конечности более чем на 5 см.

Ключевые слова: диспластический коксартроз, двухэтапное эндопротезирование, укорачивающая остеотомия.

A. N. Voloshenyuk[1], N. S. Serdyuchenko[2], M. V. Komarovskiy[3], P. V. Vorobei[3]

[1]Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus
[2]National Academy of Sciences of the Republic of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
[3]City Clinical Emergency Hospital, Minsk, Republic of Belarus

HIP REPLACEMENT IN SEVERE TYPES OF DYSPLASIA

This article presents the concept of the choice of total hip replacement in severe dysplastic coxarthrosis in adults (types 3–4 according to Grove). The criterion for the choice of surgical intervention is the relationship of the elements of the hip joint evaluated at the preoperative planning. Based on these data the analysis of joint replacement in 39 patients (48 of endoprosthesis replacement) was made. The advantage of two-stage arthroplasty in a patient with unilateral shortening more than 5 cm was considered.

Keywords: dysplastic coxarthrosis, two-stage arthroplasty, shortening osteotomy.

Введение. Диспластический коксартроз (ДК) – наиболее тяжелая патология тазобедренного сустава, а его частота, по разным оценкам, составляет от 21 до 80 % от всех случаев данного заболевания [1–3].

Особенностью ДК является не только молодой возраст пациентов, быстрое прогрессирование заболевания и отсутствие эффекта от консервативного лечения, но и значительные анатомические изменения как в вертлужной впадине, так и в области проксимального отдела бедра [4–6].

Внедрение новых типов имплантов и технологии первичной фиксации компонентов эндопротеза позволило значительно повысить эффективность лечения при ДК [7–9].

Эндопротезирование при ДК, особенно при тяжелых его типах, является сложным высокотехнологическим вмешательством, основная цель которого – восстановление длины конечности и ее опороспособности.

В ряде исследований показано, что истинная длина ноги на стороне операции может быть как больше, так и меньше нормы. Удлинение конечности на 3 см легко достигается с помощью имплантации чашки эндопротеза в истинную вертлужную впадину, однако дальнейшее ее удлинение ограничено контрактурой мышц [4, 5, 10, 11].

При выборе тактики лечения и оценке результатов важна единая классификация данной патологии. Согласно Международной классификации заболеваний XX пересмотра, выделяют три степени изменений тазобедренного сустава по тяжести: дисплазию, подвывих и вывих бедра. Однако в практической работе чаще всего применяют классификации Grove (1979), Eftekhar (1978) и Hartofiakidis (1988), поскольку в них подробно учитываются анатомо-функциональные изменения в тазобедренном суставе.

В работе нами использована классификация Grove, поскольку в соответствии с ней, кроме описания состояния головки бедренной кости во впадине, возможен процентный расчет краниального смещения головки. Так, при первом типе проксимальное смещение составляет до 50 % от высоты головки, при втором – 50–75, при третьем – 75–100, при четвертом – более 100 %.

При тяжелых формах ДК наиболее актуальными в эндопротезировании тазобедренного сустава являются вопросы восстановления ацетабулярного компонента протеза относительно его анатомического положения, применение костной пластики крыши вертлужной впадины, низведение бедра и вправление головки эндопротеза [2, 6, 10, 11].

Цель работы – оптимизировать тактику эндопротезирования тазобедренного сустава при тяжелых типах диспластического коксартроза.

Материалы и методы исследования. В основу работы положен анализ тотального эндопротезирования тазобедренного сустава у пациентов с тяжелым типом дисплазии (типы 3 и 4 по Grove). Прооперировано 39 человек, которым выполнено 48 эндопротезирований тазобедренных суставов (у 9 пациентов – с обеих сторон). Преобладали лица женского пола: среди пациентов было 35 женщин и 4 мужчины. Дисплазия с ДК типа 3 по Grove имела место в 38 случаях, а типа 4 по Grove – в 10. Средний возраст пациентов составил 44,2 года. Протезы с цементным типом фиксации применены в 5 случаях, с бесцементным – в 39, с гибридным – в 4.

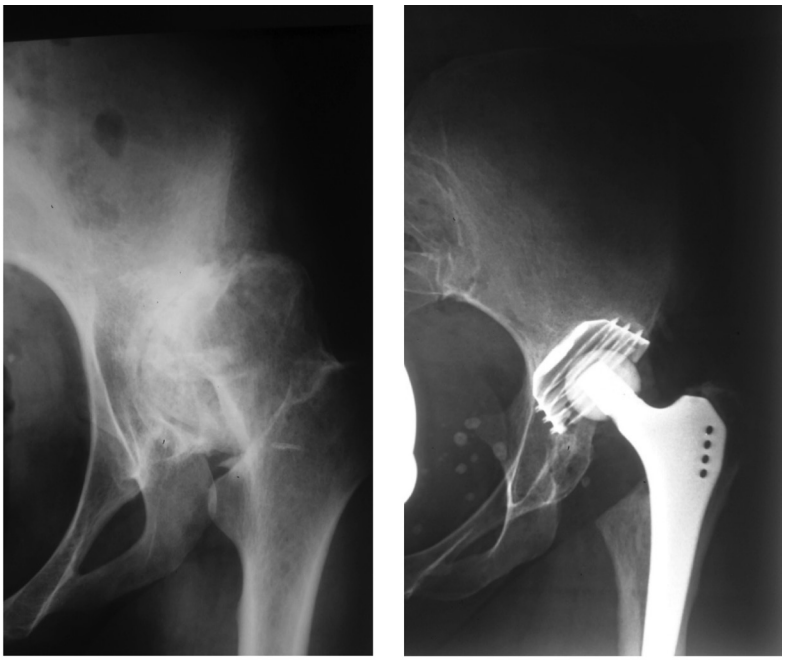
Протезы с цементным типом фиксации применяли в тех случаях, когда не удавалось добиться стабильной фиксации элементов протеза с бесцементным типом фиксации. Ацетабулярный компонент устанавливали по типу pressfit-фиксации или вкручивающейся чашки. Костная пластика в области вертлужной впадины применена у 21 пациента. Тип ножки эндопротеза подбирали в зависимости от формы костно-мозгового канала проксимального отдела бедренной кости, у 4 пациентов ножку эндопротеза изготавливали индивидуально. В 4 случаях выполнена укорачивающая остеотомия бедра при высоком вывихе бедра. В одном случае проведено двухэтапное эндопротезирование с низведением бедра с помощью постоянного скелетного вытяжения. Функциональные результаты оценивали с помощью шкалы Harris. В работе использованы клинические, лабораторные, лучевые методы исследования.

Результаты и их обсуждение. Сложность эндопротезирования тазобедренного сустава при ДК обусловлена тем, что необходимо устранить вывих бедра и установить ацетабулярный компонент в анатомической позиции вертлужной впадины. Значительная одномоментная дистракция бедра грозит развитием серьезных осложнений со стороны сосудисто-нервного пучка, что может привести к отрицательным результатам. С другой стороны, недоразвитая вертлужная впадина не всегда позволяет установить ацетабулярный компонент протеза с полным перекрытием его костной тканью, что связано с недоразвитием крыши вертлужной впадины.

В начале нашей работы в трех случаях нам не удалось установить ацетабулярный компонент в анатомическую вертлужную впадину, однако краниальное смещение истинного центра вращения не должно превышать 2 см. Уравнивание длины оперированной конечности достигалось за счет более высокой резекции шейки бедра. Хорошая адаптация ацетабулярного компонента в сформированной вертлужной впадине позволила обойтись без костной пластики и достигнуть хорошего отдаленного результата.

Пример 1. Пациентка Б., 34 лет. Диагноз: левосторонний диспластический коксартроз III стадии (тип 3 по Grove). Беспокоят боли в течение 8 лет. На рентгенограмме деформация головки бедренной кости, утолщение дна вертлужной впадины, обширные костные разрастания (рис. 1). В октябре 2006 г. выполнено тотальное эндопротезирование тазобедренного сустава эндопротезом фирмы «Ортопедикс», чашка эндопротеза имплантирована во вновь сформированную вертлужную впадину. Послеоперационный период протекал гладко, без осложнений. Осмотрена через 10 лет. Болей в покое и при нагрузке нет, ходит без дополнительных средств опоры не хромая. Функциональный результат по Harris: до операции – 22 балла, на момент осмотра – 92 балла. Пациентка результатом операции удовлетворена.

Вертлужная впадина при ДК (тонкая стенка подвздошной кости) настолько вариабельна, что не позволяет разработать специальную конструкцию при данной патологии, поэтому в 17 случаях



a *b*

Рис. 1. Рентгенограммы пациентки Б., 34 лет, с диагнозом левостороннего диспластического коксартроза III стадии (тип 3 по Grove): *a* – до операции; *b* – через 10 лет после эндопротезирования тазобедренного сустава (без пластики крыши вертлужной впадины, истинный центр вертлужной впадины смещен краниально на 1,5 см)

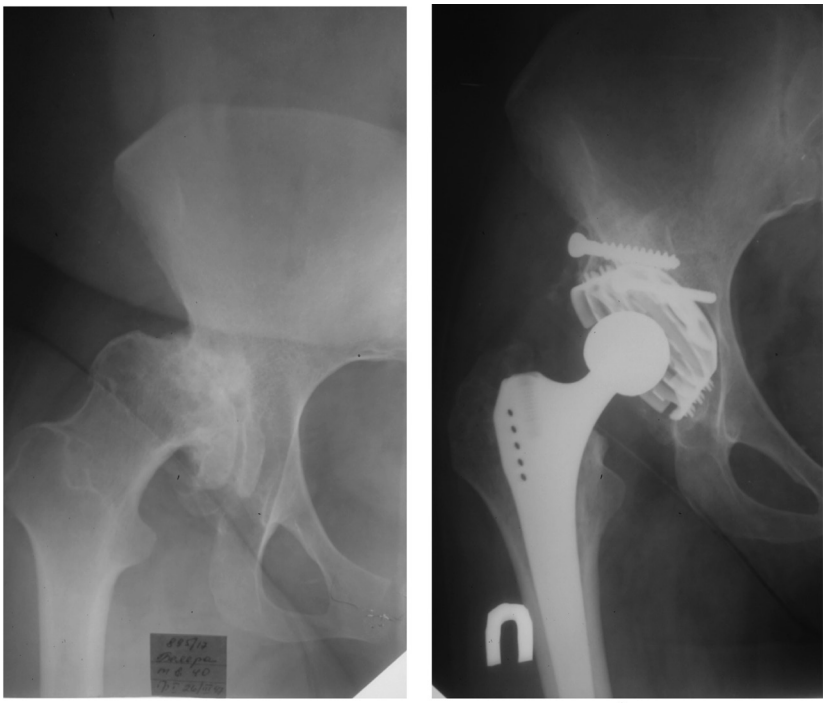
Fig. 1. Radiographs of the patient B., 34 years old, with the diagnosis of left-sided dysplastic coxarthrosis stage III (type 3 according to Grove): *a* – before surgery; *b* – 10 years after hip replacement (without the plastic roof of the acetabulum, the true acetabulum center cranically shifted by 1.5 cm)

нами применена установка ацетабулярного компонента в истинную вертлужную впадину с пластикой крыши вертлужной впадины аутотрансплантатом с резецированной головкой бедра.

Пример 2. Пациентка Б., 40 лет. Диагноз: правосторонний диспластический коксартроз III стадии (тип 3 по Grove). Стойкий болевой синдром в течение последних 5 лет. На рентгенограмме (рис. 2) головка бедренной кости и вертлужная впадина склерозированы, уплощены. В июне 1997 г. произведено эндопротезирование тазобедренного сустава с пластикой крыши вертлужной впадины аутотрансплантатом, взятым из резецированной головки бедра и фиксированным двумя шурупами. Осмотрена через 18 лет, ходит без дополнительных средств опоры не хромая. Болей нет, движения в правом тазобедренном сустава в полном объеме. На рентгенограммах признаков нестабильности элементов эндопротеза не определяется (рис. 2). Функциональный результат по Harris: до операции – 20 баллов, на момент осмотра – 91 балл.

В 4 случаях при высоком врожденном вывихе бедра и недоразвитой вертлужной впадины понадобилась ее реконструкция. Материалом для костной пластики служили головка бедренной кости и проксимальный отдел бедра, который изымается при эндопротезировании. Так, с удаленной головки и шейки бедренной кости изготавливался трансплантат, по форме отвечающий дефекту вертлужной впадины (крыша и задний край вертлужной впадины). С одной стороны находилась спонгиозная ткань, а с противоположной – кортикальный слой шейки бедренной кости. Трансплантат располагали в области колонн и крыши вертлужной впадины так, чтобы спонгиозная ткань контактировала с костями таза, а кортикальный слой находился снаружи. Через трансплантат проводили винты, которыми последний фиксировали к костям таза, после чего фрезой формировали ложе для ацетабулярного компонента протеза. Для низведения головки бедренной кости к истинному расположению вертлужной впадины использовали укорачивающую остеотомию проксимального отдела бедренной кости.

Пример 3. Пациентка П., 47 лет. Диагноз: правосторонний высокий вывих бедра. Артроз в неоартрозе III стадии (тип 4 по Grove). При осмотре атрофия мышц правого бедра, укорочение



a *b*

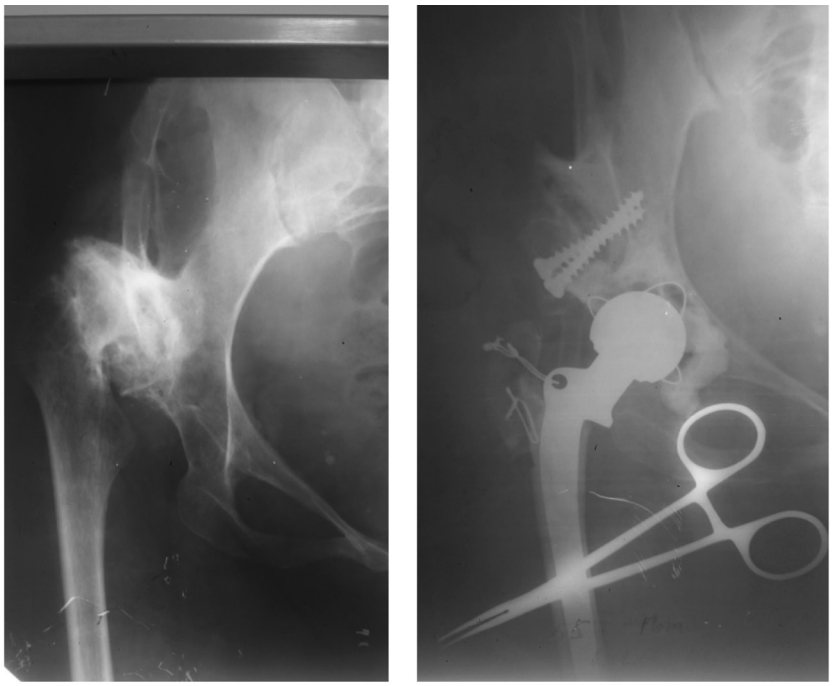
Рис. 2. Рентгенограммы пациентки Б., 40 лет, с диагнозом правостороннего диспластического коксартроза III стадии (тип 3 по Grove): *a* – до операции; *b* – через 18 лет после эндопротезирования с пластикой крыши вертлужной впадины

Fig. 2. Radiographs of the patient B., 40 years old, with the diagnosis of right-sided dysplastic coxarthrosis stage III (type 3 according to Grove): *a* – before surgery; *b* – 18 years after replacement with the plastic roof of the acetabulum

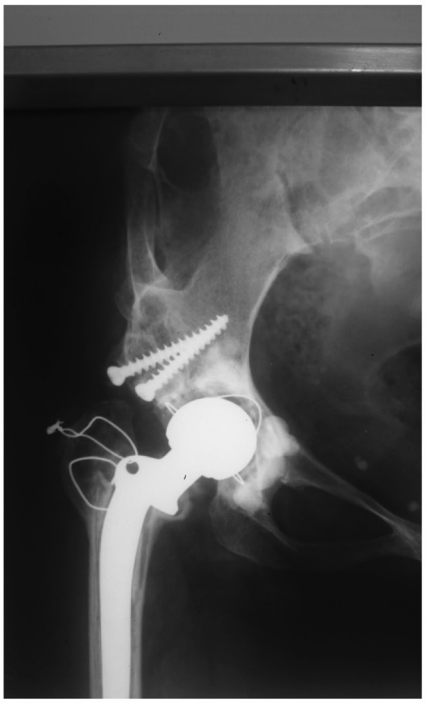
правой конечности на 8 см (рис. 3), выраженный болевой синдром, из-за которого пациентка передвигалась в инвалидной коляске. Движения в правом тазобедренном суставе резко ограничены из-за болей. В декабре 2006 г. из трансглютеального доступа выполнена тенотомия *m. iliopsoas*, из дополнительного доступа – аддукторотомия, остеотомия большого вертела и укорачивающая остеотомия проксимального отдела бедра. Капсула резецирована до вертлужной впадины, последняя недоразвита. Фрезами небольших размеров сформирована впадина с пластикой крыши и заднего края вертлужной впадины аутотрансплантатом из головки, шейки и проксимального отдела бедра. Последний фиксирован к тазу шурупами. Осмотрена через 10 лет. Передвигается с умеренной хромотой, дополнительно опираясь на трость. Движения в тазобедренном суставе: сгибание до 90º, разгибание полное, отведение 20º. Болей при ходьбе и в покое нет. Результат операции, по мнению пациентки, превзошел все ожидания. Функциональный результат по Harris: до операции 12 – баллов, после операции – 82 балла.

При возникновении необходимости удлинения конечности более чем на 5 см оперативное вмешательство выполняли в два этапа. Первым этапом проводили резекцию головки и шейки бедренной кости, мобилизацию проксимального отдела бедренной кости. Из дополнительного разреза в паховой области осуществляли тенотомию приводящих мышц. В истинную впадину устанавливали вертлужный компонент эндопротеза и послеоперационную рану ушивали наглухо. За мыщелки бедренной кости проводили спицу и налаживали постоянное скелетное вытяжение с грузом 6–12 кг в течение 2 недель. После низведения бедра до необходимого уровня выполняли второй этап эндопротезирования: иссечение послеоперационного рубца, обработку костномозгового канала бедра, установку бедренного компонента головки и вправление. Рану ушивали наглухо, активно дренировали.

Пример 4. Пациентка А., 26 лет. Диагноз: высокий врожденный вывих левого бедра (тип 4 по Grove). При осмотре жалобы на боли при нагрузке и в покое, атрофия мышц левого бедра. Сгибание в тазобедренном суставе 90º, разгибание 170º, отведение резко ограничено, ротационные движения



a *b*

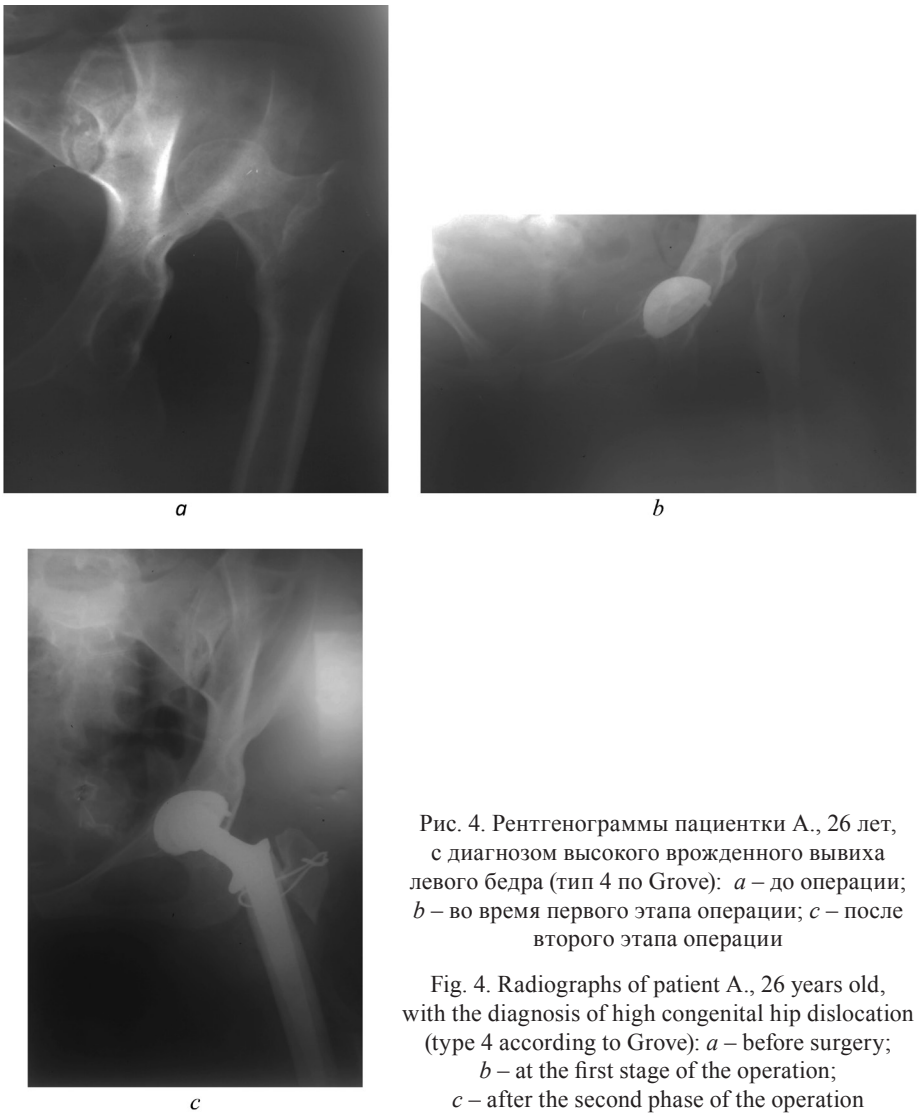


c

Рис. 3. Рентгенограммы пациентки П., 47 лет, с диагнозом правостороннего высокого вывиха бедра, артрозом в неоартрозе III стадии (тип 4 по Grove): *a* – до операции; *b* – после эндопротезирования с реконструкцией крыши и заднего края вертлужной впадины аутотрансплантатом из головки, шейки и проксимального отдела бедра; *c* – через 10 лет после эндопротезирования тазобедренного сустава

Fig. 3. Radiographs of the patient P., 47 years old, with the diagnosis of right-sided high hip dislocation, osteoarthritis at portrose stage III (type 4 according to Grove): *a* – before surgery; *b* – after replacement with reconstruction of the roof and the rear edge of the acetabulum with autograft from the head, neck, and proximal femur; *c* – 10 years after hip replacement

резко болезненны. Укорочение левой нижней конечности на 10 см (рис. 4, *a*). 20.07.2009 выполнен первый этап операции с установкой ацетабулярного компонента в истинную вертлужную впадину по типу pressfit (рис. 4, *b*). За мыщелки бедренной кости проведена спица и смонтировано постоянное скелетное вытяжение. Первоначальный груз 6 кг в течение недели доведен до 12 кг. Через 2 недели после низведения бедра выполнен второй этап операции (рис. 4, *c*). Послеоперационный период протекал без осложнений. Укорочение конечности на 2,5 см. Полная нагрузка разрешена через 4 мес. При контрольном осмотре через 2 года явилась на осмотр без рентгенограмм. Болей нет, ходит без дополнительных средств опоры на каблуках высотой 8 см. Объем движений: сгибание 90º, разгибание 180º, отведение 25º. От дальнейших контрольных осмотров отказалась.



a *b* *c*

Рис. 4. Рентгенограммы пациентки А., 26 лет, с диагнозом высокого врожденного вывиха левого бедра (тип 4 по Grove): *a* – до операции; *b* – во время первого этапа операции; *c* – после второго этапа операции

Fig. 4. Radiographs of patient A., 26 years old, with the diagnosis of high congenital hip dislocation (type 4 according to Grove): *a* – before surgery; *b* – at the first stage of the operation; *c* – after the second phase of the operation

Заключение. Таким образом, при эндопротезировании тазобедренного сустава в тяжелых случаях дисплазии ацетабулярный компонент необходимо установить в истинную вертлужную впадину. При наличие дефекта крыши вертлужной впадины показана костная пластики аутотрансплантатом с резецированной головки и шейки бедренной кости.

В случае укорочения конечности более чем на 5 см показано эндопротезирование с укорачивающей остеотомией проксимального отдела бедра и реконструкцией крыши и заднего края вертлужной впадины.

При одностороннем укорочении с целью профилактики осложнений со стороны сосудисто-нервного пучка показано двухэтапное оперативное вмешательство: первый этап – установка вертлужного компонента, второй этап – низведение головки бедра, установка бедренного компонента и вправление головки бедра в ранее установленную вертлужную впадину.

Список использованных источников

1. Городний, И. П. Одномоментное двустороннее тотальное эндопротезирование тазобедренных суставов / И. П. Городний, Н. В. Корнилов, В. П. Москалев // Сб. тр. 8-го съезда травматологов и ортопедов России. – Самара, 2006. – Т. 1. – С. 500.

2. Николаенко, В. К. Эндопротезирование тазобедренного сустава в сложных случаях / В. К. Николаенко, Б. П. Буряченко, Ю. В. Аксенов // Воен.-мед. журн. – 2003. – № 8. – С. 16–22.

3. Simultaneous bilateral total hip arthroplasty in a single procedure / G. Lei [et al.] // Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. – 2005. – Vol. 19, N 9. – P. 714–716.

4. Волошенюк, А. Н. Диспластический коксартроз (хирургическое лечение взрослых) / А. Н. Волошенюк. – Минск, 2003. –100 с.

5. Николенко, В. К. Особенности эндопротезирования при тяжелых поражениях тазобедренного сустава / В. К. Николенко, Б. П. Буряченко // Вестн. травматологии и ортопедии. – 2004. – № 2. – С. 3–6.

6. Single-stage bilateral total hip arthroplasty / W. Macaulay [et al.] // J. Am. Acad. Orthop. Surg. – 2002. – Vol. 10, N 3. – P. 217–221.

7. Эндопротезирование тазобедренного сустава протезами нового поколения / А. Н. Абельская [и др.]. – Минск: Медицина, 2013. – С. 11–14.

8. Laursen, J. O. One-stage bilateral total hip arthroplasty a simultaneous procedure in 79 patients / J. O. Laursen, H. Husted, N. B. Mossing // Acta Orthop. Belg. – 2000. – Vol. 66 (3). – P. 265–271.

9. One-stage bilateral total hip arthroplasty in patients more or 75 years / M. A.Weinstein [et al.] // Orthopedics. – 2002. – Vol. 25 (11). – P. 1224.

10. Bilateral total hip replacement / S. Ziegler [et al.] // Anesthesiology. – 2006. – Vol. 105-A. – P. 603.

References

1. Gorodnii, I. P., Kornilov N. V. and Moskalev V. P. (2006) “One-stage bilateral total hip arthroplasty”, *Sbornik trudov 8-go s’ezda travmatologov i ortopedov Rossii* [Proceedings of the 8th Congress of Trauma and Orthopaedic Russia], Samara, RU, vol. 1, p. 500.

2. Nikolaenko, V. K., Buryachenko, B. P. and Aksenov, Yu. V. (2003) “Hip arthroplasty in difficult cases”, *Voenno-meditsinskii zhurnal* [Military Medical Journal], no. 8, pp. 16-22.

3. Lei, G., Chen, X., Li, K., Long, W., Hu, J., Hu, Y., Deng, Z. and Liao, Q. (2005) “Simultaneous bilateral total hip arthroplasty in a single procedure”, *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, vol. 19, no. 9, pp. 714-716.

4. Voloshenyuk, A. N. (2003) *Displasticheskii koksartroz: Khirurgicheskoe lechenie vzroslykh* [Dysplastic coxarthrosis: Surgical treatment of adults], Izdatel’skii tsentr BGU, Minsk, BY.

5. Nikolenko, V. K. and Buryachenko, B. P. (2004) “Features arthroplasty in severe lesions of the hip joint”, *Vestnik travmatologii i ortopedii* [Bulletin of traumatology and orthopedics], no. 2, pp. 3-6.

6. Macaulay, W., Salvati, E. A., Sculco, T. P. and Pellicci, P. M. (2002) “Single-stage bilateral total hip arthroplasty”, *Journal of the American Academy or Orthopaedic Surgeons*, vol. 10, no. 3, pp. 217-221.

7. Abel’skaya, I. S., Voloshenyuk, A. N., Tikhon, D. S. and Petkevich, E. A. (2013) “Hip replacement new generation of artificial limbs”, *Meditsina* [Medicine], no. 4, pp. 11-14.

8. Laursen, J. O., Husted. H. S. and Mossing, N. B. (2000) “One-stage bilateral total hip arthroplasty a simultaneous procedure in 79 patients”, *Acta orthopaedica Belgica*, vol. 66, no. 3, pp. 265-271.

9. Weinstein, M. A., Keggi, J. M., Zatorski, L. E. and Keggi, K. J. (2002) “One-stage bilateral total hip arthroplasty in patients more or 75 years”, *Orthopedics*, vol. 25, no. 11, p. 1224.

10. Ziegler, S., Merman, R. and Kandel, A. (2006) “Bilateral total hip replacement”, *Anesthesiology*, vol. 105-A, p. 603.

Информация об авторах

Волошенюк Александр Николаевич – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. Петруся Бровки, 3/3, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: info@belmapo.by

Сердюченко Николай Сергеевич – д-р мед. наук, профессор. Национальная академия наук Беларуси (пр. Независимости, 66, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: nasb@presidium.bas-net.by

Комаровский Михаил Владимирович – зав. отделением. Больница скорой медицинской помощи (ул. Кижеватого, 58, 220024, Минск, Республика Беларусь). E-mail: minskbsmp@mail.belpak.by

Воробей Петр Васильевич – травматолог-ортопед. Больница скорой медицинской помощи (ул. Кижеватого, 58, 220024, Минск, Республика Беларусь). E-mail: minskbsmp @mail.belpak.by

Information about the authors

Woloshenuk Aleksandr Nikolaevich – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: info@belmapo.by

Serduchenko Nikolai Sergeevich – D. Sc. (Med.), Professor. National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nasb@presidium.bas-net.by

Komarovsky Mikhail *Vladimirovich* – Head of the Department. City Clinical Emergency Hospital (58, Kizhevatyi Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: minskbsmp@ mail.belpak.by

Vorobei Piotr Vasilievich – Traumatologist. City Clinical Emergency Hospital (58, Kizhevatyi Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: minskbsmp @mail.belpak.by

Для цитирования

Эндопротезирование при тяжелых типах дисплазии тазобедренного сустава / А. Н. Волошенюк [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – № 4. – С. 89–95.

For citation

Voloshenyk A. N., Serdyuchenko N. S., Komarovskiy M. V., Vorobei P. V. Hip replacement in severe types of dysplasia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series*, 2016, no. 4, pp. 89–95.

ISSN 1814-6023 (print)

АГЛЯДЫ

SURVEYS

УДК 616.211-089.844

Поступила в редакцию 30.09.2016
Received 30.09.2016

С. А. Иванов[1], И. Д. Шляга[1], И. В. Залуцкий[21]

[1]Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Республика Беларусь
[2]Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

РЕКОНСТРУКЦИЯ НАРУЖНОГО НОСА: ИСТОРИЯ И СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

История восстановления утраченных структур наружного носа насчитывает более двух тысячелетий. Приведен исторический обзор развития реконструктивной хирургии носа с античных времен до настоящего времени. Охарактеризованы основные способы замещения дефектов разнотипным пластическим материалом и алгоритмы хирургической тактики. Перечислены параметры дефектов, влияющих на достижение оптимального клинического и функционального результата. Отмечены базовые хирургические техники и стратегические концепции. Рассмотрены основные пути решения проблемы, а также направления дальнейшего совершенствования мероприятий по восстановлению дефектов носа. Приведена краткая характеристика современного состояния проблемы.

Ключевые слова: ринология, дефекты наружного носа, реконструкция наружного носа.

S. A. Ivanov[1], I. D. Shlyaga[1], I. V. Zalutsky[2]

[1]Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus
[2]Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

NASAL RECONSTRUCTION: HISTORY OF THE PROCEDURE AND THE CURRENT STATE OF PROBLEM

The history of restoration of lost structures of the external nose has more than two millennia. An overview of the development of the nasal reconstruction from the ancient times until now is presented. The basic methods of nasal defects reconstruction using different plastic material and surgical guidelines are described. The defect characteristics influencing the achievement of the optimal clinical and functional outcomes are noticed. The approaches to solving the problem and the directions of evolution of reconstructive rhinoplasty are characterized. A brief description of the current state of the problem is presented.

Keywords: rhinology, external nose defects, nasal reconstruction.

Введение. Нос является центральной структурой композиции человеческого лица и выполняет функцию презентации личности и функцию внешнего дыхания. Выступающее положение, подверженность инсоляции и косметическая значимость определили перечень причин, которые приводят к образованию дефектов наружного носа (НН): травмы, хирургическое лечение новообразований кожи, инфекционные заболевания. В данной работе рассматриваются способы устранения приобретенных дефектов, связанных с утратой частей носа, исключая деформации и особенности строения. История реконструкции НН является наиболее продолжительной в сравнении с историей устранения дефектов других частей тела. Знаковые события развития восстановительной хирургии носа соответствуют эволюции медицинской науки и практики и отражены во многих работах [1–6]. Первые объемные исторические обзоры были опубликованы R. H. Ivy в 1925 г. и F. McDowell с соавт. в 1946 г. [6].

Устранение дефектов НН составляет одну из наиболее трудных задач пластической хирургии. Это объясняется сложным рельефом, наличием нескольких слоев ткани и высокими требованиями

© Иванов С. А., Шляга И. Д., Залуцкий И. В. 2016

к косметическому и функциональному результату. Актуальность проблемы обусловлена ростом заболеваемости раком кожи, который часто локализуется в области носа. Использование только искусственных материалов для протезирования является достаточно дорогостоящим и недоступным большинству населения методом. Восстановление НН располагает множеством способов и организационных решений, однако имеет ряд нерешенных проблем. Изучение истории реконструкции НН позволяет проследить за развитием хирургической техники и теоретических основ, выявить перспективы новых решений.

Цель работы – характеристика основных событий, особенностей и закономерностей в эволюции реконструктивной хирургии носа, формулирование нерешенных проблем и возможных путей их решения.

Материалы и методы исследования. Проведен аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы, интернет-ресурсов (PubMed и др.) по теме реконструкции дефектов НН.

Результаты и их обсуждение. Первые известные попытки восстановить НН обнаружены в древнеегипетских папирусах и относятся к III тыс. до н. э. [1–5, 7]. В Индии брахманы касты Koomas выполняли пересадку фрагментов тканей ягодиц в область дефекта носа [3]. Высказывается мнение, что реконструкция носа осуществлялась в тибетских монастырях ранее, чем в Индии [3]. Наиболее древнее подробное описание техники операции приведено в трактате Sushruta Samhita (около 800–600 лет до н. э.) [1–6]. Описано восстановление носа покровными тканями лба и щеки. Эти методики составляют основу большинства современных способов реконструкции. Sushruta описал не только технику операции, но и более 120 хирургических инструментов, методику заживления раны, включая 14 типов повязок, топические гемостатики и репаранты, обезболивание алкогольными напитками, десятки различных патологических состояний носа [1].

Знания индийских врачевателей проникали на Ближний Восток и в Европу. Первые упоминания устранения дефектов носа в Европе зафиксированы в трудах Цельса (I в. н. э.) [2–4]. В XIII в. в Дамаске врач Ibn Abi Usaybia перевел самхиту с санскрита на арабский язык. Описания перемещения лоскутов со щеки и лба в область утраченного носа распространились в Персию и Египет [1]. В Европе предпринимались попытки микшировать дефекты НН с помощью протезов. Искусственные носы были впервые описаны в 669–711 гг. н. э., но этот метод не получил распространения. Французский хирург Ambroise Pare популяризовал эту методику в XVI в., используя драгоценные металлы (1546 г.) [1, 3, 5].

Эпоха Ренессанса в европейской медицине отмечена разработкой и применением реконструкции НН двухэтапной транспозицией лоскута с плеча в XV–XVI вв. н. э. Первое упоминание о способе относится к 1442 г., автор – Branca Minuti, хирург из Катании [3, 4]. Сведения о клиническом применении присутствуют в трудах H. Pfalzpaint (1460), военного хирурга Тевтонского ордена в Баварии, и A. Benedetti (1502), главного хирурга венецианской армии. В 1568 г. издана книга L. Fioravanti, в которой упомянута «итальянская» пластика. Широко известна и наиболее часто фигурирует в исторических обзорах книга “De Curtorum Chirurgia per Insitionem” («О хирургии дефектов всаживанием») G. Tagliacozzi (1597 г.), профессора анатомии и медицины Болонского университета [2, 4, 5]. В этом издании содержится подробное описание и графическое изображение реконструкции носа кожным лоскутом с плеча. Заслуги итальянской хирургической школы увековечены памятником в Болонье – Гаспар Тальякоцци держит в руке нос. Известные хирурги ренессансной Европы G. Fallopius и A. Pare (XVI–XVII вв.) тоже практиковали реконструкцию носа, но относились к ней скептически. После этого восстановительная хирургия в Европе свелась к шарлатанству и мошенничеству. Описания XVII–XVIII вв. носят характер небылиц или сатиры [3].

Началом современного этапа реконструктивной хирургии НН считается публикация в Madras Gazette в 1793 г., в которой описан случай восстановления носа индийским хирургом, засвидетельствованный европейскими врачами T. Cruso и J. Findlay [1, 7]. В 1794 г. публикация появилась в Gentleman’s Magazine с подробным описанием техники операции [1, 3].

В период наполеоновских войн проблема устранения дефектов становилась все более актуальной из-за травматизма. Базовыми способами были индийский и итальянский [3, 4]. Британский хирург J. C. Carpue в 1816 г. представил результаты успешной транспозиции лобного лоскута, van

Graefe (Германия, 1818) применил и усовершенствовал «итальянский» лоскут [3, 4, 8]. Наиболее важные способы устранения дефектов НН, пополнившие арсенал хирургии в XIX в.: ротация щечного лоскута и скользящий V-Y лоскут (J. F. Dieffenbach, 1828), аутотрансплантация фрагментов ткани (B. von Langenbeck, H. L. Duhamel, J. Reverdin, вторая половина XIX в.), формирование дупликатуры лоскута для устранения сквозных дефектов (Petralli, 1842) [1–7]. Внедрение в практику реконструкции носа на территории Восточной Европы связано с деятельностью Н. И. Пирогова. Появлялись новые инструменты, систематизировался полученный опыт, проводился анализ неудовлетворительных результатов реконструкции [3, 8]. Следует упомянуть работы обобщающего характера – "Traite sur L'art de Restaurer Difformites de la Face" Labat and Blanden (1836) и "Adnotationes ad rhinoplasticen" Ю. К. Шимановского (1857). К концу XIX в. арсенал реконструктивной хирургии располагал несколькими основными методиками устранения изъянов НН: транспозиция лобного лоскута (индийский), транспозиция плечевого лоскута (итальянский), транспозиция щечного лоскута (французский), трансплантация фрагментов кожи [7, 9–11].

Пути развития реконструкции НН в XX в. – разработка концепции оптимального косметического результата, создание пластического материала (ПМ) с включением разных тканей для формирования наружного кожного покрова, хрящевого каркаса и внутренней выстилки, минимизация изменений в донорской зоне. Проблема оптимального косметического результата решалась в двух направлениях, которые нередко дополняли друг друга. Во-первых, совершенствовались известные и разрабатывались новые техники реконструкции. В-вторых, создавалась теоретическая база для рациональной тактики при устранении изъянов разного типа.

Несколько способов устранения дефектов кожи носа, разработанных в XX в., приобрели популярность и часто упоминаются в тематической литературе: двудолевой лоскут (J. F. S. Esser, 1918), лоскут из спинки носа (R. A. Rieger, 1967), на основе которого были созданы лоскуты с осевым кровотоком (D. Marchac, 1985; Y. Maruyama, 1997), флажковый лоскут (banner flap) (R. A. Elliott, 1969), модификации филатовского стебля (Ф. М. Хитров, 1949), трансплантация свободного лоскута на микрососудистых анастомозах (W. M. Swartz, 1988), паззл-лоскут (L. H. Goldberg с соавт., 2005).

Методическое развитие некоторых принципиальных способов происходило более активно. Двудолевой лоскут приобрел известность в 1950-е годы [12, 13], в 1989 г. J. A. Zitelli обосновал ключевые пункты, касающиеся сферы применения и технических нюансов этой методики. Опыт применения кожных графтов в реконструкции НН представлен в многочисленных исследованиях начиная со второй половины XIX в. Клинические рекомендации по оптимальному их использованию сформулированы в работах конца XX – начала XXI в. [1, 3, 4, 9, 10, 12, 14]. Ротационный лоскут из тканей щеки применялся и в виде ряда вариаций, касающихся формы, размера, угла ротации, коррекции остаточной деформации, дизайна в виде островка [4, 6–8, 15].

Наиболее разностороннему видоизменению подвергся классический лобный лоскут. Специалисты прилагали усилия, чтобы увеличить его длину, избежать переноса волос на неонос, моделировать толщину и форму лоскута [8]. Существуют различные варианты решения вопроса о сроках и объеме корригирующих вмешательств после транспозиции. Исследование кровоснабжения кожи лба позволило обосновать ряд новых решений в этом направлении [8, 16, 17]. Современный подход к использованию лобного лоскута для реконструкции НН сформулирован F. J. Menick в 2004 г.

Расширение хирургической активности требовало выработки стратегических положений ринопластики. В 1925 г. V. P. Blair впервые был сформулирован основной перечень ключевых пунктов, который определил конечный результат реконструкции: правильные контуры, ровный наружный покров, наличие каркасной структуры и внутренней эпителиальной выстилки, свободное проведение воздуха [9]. Большой вклад в пластическую хирургию покровных тканей внесен А. А. Лимбергом, который в середине XX в. математически обосновал планирование операций [18].

Необходимость восстановления каждого из утраченных слоев носа стала очевидной по мере анализа неудовлетворительных косметических результатов реконструкции. При использовании однослойного лоскута развивалась рубцовая контрактура, а при формировании дупликатуры лоскута восстановленный участок был значительно толще естественного. Отсутствие хрящевого каркаса приводило к пролапсу крыла носа и нарушению дыхания. Изначально многослойный ПМ получен из ушной раковины К. П. Сусловым в 1898 г. и F. Koenig в 1902 г. Методика исполь-

зуется и в настоящее время [7, 9]. Формирование многослойного ПМ было предметом исследования H. A. Gillies (1920–1940-е годы), V. Kazanjian (1930-е годы), Ф. М. Хитрова (1940–1950-е годы), J. Converse (1950-е годы), D. R. Millard (1970–2000-е годы), J. J. Pribaz (1990-е годы), G. C. Burget, F. J. Menick (1980–2010-е годы) и других специалистов. Восстановление утраченных частей носа осуществлялось как естественным ПМ, содержащим разнородные ткани, так и комбинацией кожных и слизистых лоскутов, кожных и хрящевых трансплантатов, искусственных материалов [4, 7, 19]. Хронологически в арсенал пластических и реконструктивных хирургов включались следующие методики для создания каркасной опоры: L-образный фрагмент аутокости или аутохряща (H. A. Gillies, 1920), L-образный лоскут из носовой перегородки (D. R. Millard, 1967), костно-хрящевой аутографт из ребра (L. A. Chait с соавт., 1980; R. K. Daniel, 1994), костные графты из свода черепа (B. R. Neu, 2000; J. M. Thomassin с соавт., 2001), полимерный искусственный материал (T. Romo с соавт., 1998; I. Niechajev, 1999) [4], трансплантация трупного хряща (С. Иванов с соавт., 2014). Эпителиальный покров внутренней поверхности носа формировали лоскутами из соседних субъединиц лица, лоскутами из слизистой оболочки носа, кожными графтами [3–5, 9, 20]. В 1898 г. Lossen предложил трансплантацию кожного графта на внутреннюю поверхность лобного лоскута [4], что явилось первой попыткой формирования многослойного ПМ. H. A. Gillies в 1949 г. описал комбинацию лобного лоскута с кожно-хрящевым аурикулярным графтом [4, 8], а также использование слизисто-хрящевых и слизисто-надхрящничных лоскутов из носовой перегородки, фрагментов трупного хряща [4, 9, 17, 21]. Способы формирования ПМ отличаются получением и перемещением донорского материала, последовательностью включения компонентов. Для замещения каркасных структур чаще используется аурикулярный и реберный аутохрящ, значительно реже – хрящ перегородки носа и силиконовые импланты. Проблемы применения аутохряща – риск недостатка материала и увеличение длительности операции. Исследование возможности формирования ПМ с включением трупного хряща может исключить дефицит, дополнительную травму и сократить время операции [21].

Свободные лоскуты стали активно использоваться в реконструктивной хирургии с 1960–1970-х годов. Их применение для восстановления носа не позволило добиться лучших результатов по сравнению с местными и региональными лоскутами [9, 22]. Методика имеет значение в основном для реконструкции тотальных и субтотальных дефектов, требует корригирующих вмешательств.

По мере накопления клинических наблюдений приходило понимание пределов возможностей при использовании конкретного способа. Как правило, формулировались рекомендации в отношении дизайна лоскута, особенности хирургической техники, тактические положения. Руководства по реконструктивной хирургии конца XX в. содержат описание десятков способов восстановления НН без попыток назвать хотя бы приблизительное их число. Монографии последних двух десятилетий, посвященные реконструкции носа, имеют объем более 500 страниц и содержат информацию о технике вмешательств и периоперативной курации [23, 24].

Теоретическое обоснование касалось не только потенциала того или иного способа. Удовлетворительный косметический результат стали увязывать с максимальным соответствием цвета и текстуры естественной кожи и неоноса [7, 9, 23]. В связи с этим было отмечено различие кожи дистальных и проксимальных отделов носа. Во многих работах акцентировано внимание на особенностях реконструкции нижней трети носа по сравнению с другими субъединицами [7, 9, 10, 23–25]. При оценке возможностей конкретного способа упоминается пригодность для каждой из частей носа, причем важна не только беспрепятственная транспозиция, но и внешнее соответствие донорской и акцепторной кожи [6, 7, 9, 10, 20, 23–25]. Одно из направлений исследовательской деятельности предполагает сравнение кожи разных частей лица по гистологическим критериям, определяющим внешнее восприятие. На сегодняшний день имеются лишь единичные публикации по этой теме [26].

Параметры изъяна подвергались изучению применительно к реконструктивной тактике. Известно несколько классификаций дефектов НН [7, 10, 14, 19, 24, 25]. Все они однотипны и включают следующие критерии: размер, локализацию, глубину (число слоев), состояние тканей. Отмечается, что утрата хрящевых структур и внутренней выстилки имеет большее значение при локализации в нижней трети носа [7, 9, 10, 23, 24].

Ориентация на достижение адекватного косметического результата закономерно привела к выработке решений общего планирования реконструкции НН. В 1985 г. G. C. Burget и F. J. Menick опубликовали концепцию, основанную на учете границ эстетических субъединиц носа. В последующем в нее были внесены дополнения (D. K. Hoasjoe с соавт., 1994; D. J. Singh, S. P. Bartlett, 2003). До сегодняшнего дня концепция субъединиц является определяющей при планировании реконструкции НН.

Использование покровных тканей лица как базового материала для устранения дефектов носа создает проблему ущерба для донорской зоны. Авторские решения в этом направлении связаны с применением корригирующих вмешательств, дерматензии [7, 9, 10], микшированием рубца за счет естественного рельефа кожи [10], использованием аллогенных материалов [9, 21]. Особое направление представляет собой технология экзопротезирования НН [27]. Протез конструируется индивидуально, максимально приближается к естественным цвету, форме, консистенции, теплоотдаче, надежно фиксируется. В настоящее время экзопротезы носа не являются общедоступными из-за стоимости и сложности изготовления. Достижения тканевой инженерии и трансплантологии востребованы при реконструкции НН в меньшей степени, нежели для других частей тела: публикации на эту тему в основном посвящены перспективам их применения (A. O. Oseni с соавт., 2013). Адаптация биотехнологий к задачам ринопластики или осуществление трансплантации всего комплекса НН от трупного донора вполне вписались бы в общие тренды реконструктивной хирургии.

По мере накопления новых знаний проблематика исследований включала все более частные аспекты: срок выполнения реконструкции [7], особенности реконструкции в разных возрастных группах [9], тактика при осложнениях [9, 23]. В большинстве публикаций основу клинического материала составляют реконструкции НН после удаления злокачественных опухолей. Контингент этих пациентов характеризуется пожилым возрастом, более высоким риском осложнений, необходимостью учитывать онкологические аспекты [7, 9, 24].

Заключение. Современное состояние проблемы реконструкции НН сформировалось на основе представления о центральном положении этой анатомической единицы в эстетическом ансамбле лица. Стратегия реконструкции имеет целью воссоздание естественного внешнего вида с максимально возможным косметическим результатом, трехслойной структуры, функции воздухопроведения при минимальном ущербе для донорской зоны. Большинство методов основано на использовании аутотканей. Существующие клинические алгоритмы имеют несколько ступеней и учитывают разнородные факторы: характеристики дефекта и донорских тканей, возраст пациента, сопутствующие заболевания, причину утраты части носа. Наибольшие сложности вызывает устранение дефектов нижней трети носа: при отсутствии даже одной субъединицы могут потребоваться неоднократные оперативные вмешательства. Наиболее актуальные проблемы при устранении дефектов носа: сложность формирования многослойного пластического материала, длительность процедуры и риск осложнений ишемического характера при использовании комбинированного материала лоскут + трансплантат, многоэтапность и травматичность операций у пожилых пациентов онкологического профиля. Перспективные пути решения этих вопросов: разработка новых методик создания многослойного пластического материала, усовершенствование способов интраоперационного мониторинга донорских тканей, внедрение в профильных клиниках типовых способов устранения дефектов носа.

Список использованных источников

1. Kaluskar, S. K. Evolution of Rhinology / S. K. Kaluskar // Indian J. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2008. – Vol. 60. – P. 101–105.

2. Rhinoplasty – a History of Creativity / S. P. Kesari [et al.] // SMU Med. J. – 2015. – Vol. 2, N 2. – P. 278–285.

3. Буриан, Ф. Пластическая хирургия / Ф. Буриан. – Прага: Изд-во Чехослов. акад. наук, 1962. – 127 с.

4. Unger, J. G. Nasal reconstruction / J. G. Unger, J. F. Thornton, J. R. Griffin // Selected Readings in Plast. Surg. – 2014. – Vol. 11, iss. R6. – P. 1–45.

5. Тычинкина, А. К. Кожно-пластические операции / А. К. Тычинкина. – М.: Медицина, 1972. – 152 с.

6. Muzaffar, A. R. Nasal reconstruction / A. R. Muzaffar, J. M. English // Selected Readings in Plast. Surg. – 2000. – Vol. 9, N 13. – P. 1–32.

7. Kline, R. M. Aesthetic reconstruction of the nose following skin cancer / R. M. Kline // Clin. Plast. Surg. – 2004. – N 31. – P. 93–111.

8. Menick, F. J. Nasal Reconstruction: Forehead Flap / F. J. Menick // Plast. and Reconstr. Surg. – 2004. – Vol. 113, N 6. – P. 100e-111e.

9. Beahm, E. K. Concepts in Nasal Reconstructions / E. K. Beahm, R. L.Walton, G. C. Burget // Principles of Cancer Reconstr. Surg. – New York: Springer, 2008. – P. 161–189.

10. Romani, J. Repair of Surgical Defects of the Nasal Pyramid / J. Romani, M. Yebenes // Actas Dermosifiliogr. – 2007. – N 98. – P. 302–311.

11. Using of the composite auricular graft in nasal reconstruction / T. A. Cerratti [et al.] // Rev. Bras. Cir. Plast. – 2012. – Vol. 27, N 4. – P. 640–643.

12. Пластическая и реконструктивная хирургия лица / под ред. А. Д. Пейпла; пер. с англ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – 951 с.

13. Steiger, J. D. Bilobed flaps in nasal reconstruction / J. D. Steiger // Facial Plast. Surg. Clin. North Am. – 2011. – Vol. 19. – P. 107–111.

14. Васильев, С. А. Пластическая хирургия в онкологии / С. А. Васильев. – Челябинск: Изд-во «Челябинская государственная медицинская академия», 2002. – 262 с.

15. Island Pedicle and Bilobed Flaps in Ala and Back Nose Reconstruction: A Prospective Comparative Analysis / C. Monarca [et al.] // Aesthetic Plastю Surg. – 2012. – Vol. 18, N 36 (5). – P. 1168–1174.

16. The median forehead flap: the blood supply / J. G. McCarthy [et al.] // Plast. Reconstr. Surg. – 1985. – Vol. 76 (6). – P. 866–869.

17. Menick, F. J. A ten-year experience in nasal reconstruction with the three-stage forehead flap / F. J. Menick // Plast. Reconstr. Surg. – 2002. – Vol. 109. – P. 1835–1839.

18. Лимберг, А. А. Планирование местнопластических операций / А. А. Лимберг. – Ленинград: Медгиз, 1963. – 509 с.

19. Устранение дефектов средней зоны лица / П. З. Аржанцев [и др.] // Восстановительная хирургия мягких тканей челюстно-лицевой области: руководство. – М.: Медицина, 1997. – С. 107–135.

20. Burget, G. C. Nasal support and lining: The marriage of beauty and blood supply / G. C. Burget, F. J. Menick // Plast Reconstr. Surg. – 1989. – Vol. 84. – P. 189–202.

21. Иванов, С. А. Результаты пластического замещения дефектов носа с применением трансплантации аллохряща / С. А. Иванов, И. Д. Шляга // Проблемы здоровья и экологии. – 2016. – № 2 (48). – С. 100–105.

22. Swartz, W. M. Microvascular approaches to nasal reconstruction / W. M. Swartz // Microsurgery. – 1988. – Vol. 9. – P. 50–153.

23. Menick, F. J. Nasal Reconstruction: Art and Practice / F. J. Menick. – Elsiever, 2009. – 759 p.

24. Baker, S. R. Principles of Nasal Reconstruction / S. R. Baker. – New York: Springer Science + Buiseness Media, 2011. – 587 p.

25. Золтан, Я. Операционная техника и условия оптимального заживления ран. – Будапешт: Изд-во Акад. наук Венгрии, 1983. – 169 с.

26. McKay, D. Nasal Reconstruction / D. McKay // Plastic Surgery Problem Solving. – New York: Mc Grow Hill Companies, 2009. – P. 58–62.

27. Thornton, J. F. Nasal Reconstruction: an Overview and Nuances / J. F. Thornton, J. R. Griffin, F. C. Constantine // Semin. Plast. Surg. – 2008. – N 22. – P. 257–268.

28. Виссарионов, В. А. Варианты хирургического устранения различных дефектов концевого отдела носа / В. А. Виссарионов, И. А. Карякина // Системная интеграция в здравоохранении (электрон. науч. журн.). – 2010. – № 1 (7).

29. Rahman, M. The histology of facial aesthetic subunits: implications for common nasal reconstructive procedures / M. Rahman // J. Plast Reconstr. Aesthet. Surg. – 2010. – N 63 (5). – P. 753–756.

30. Ahmed, B. Rehabilitaton of nose using silicone based maxillofacial prosthesis / B. Ahmed // J. Coll. Physicians Surg. Pak. – 2010. – Vol. 20. – P. 65–67.

References

1. Kaluskar, S. K. (2008) “Evolution of Rhinology”, *Indian journal of otolaryngology and head and neck surgery*, vol. 60, pp. 101-105.

2. Kesari, S. P., Chakraborty, S., Sinha, P. and Das, S. (2015) “Rhinoplasty – a History of Creativity”, *SMU Medical Journal*, vol. 2, no. 2, pp. 278-285.

3. Burian, F. (1962) *Plasticheskaya khirurgiya* [Plastic surgery], Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha, CZ.

4. Unger, J. G., Thornton, J. F. and Griffin, J. R. (2014) “Nasal reconstruction”, *Selected Readings in Plastic Surgery*, vol. 11, no. R6, pp. 1-45.

5. Tychinkina, A. K. (1972) *Cozhno-plasticheskie operatsii* [Cutaneous plastic operations], Meditsina, Moscow, RU.

6. Muzaffar, A. R. and English, J. M. (2000) “English Nasal reconstruction”, *Selected Readings in Plastic Surgery*, vol. 9, no. 13, pp. 1-32.

7. Kline, R. M. (2004) “Aesthetic reconstruction of the nose following skin cancer”, *Clinics in Plastic Surgery*, no. 31, pp. 93-111.

8. Menick, F. J. (2004) “Nasal Reconstruction: Forehead Flap”, *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 113, no. 6, pp. 100e-111e.

9. Beahm, E. K., Walton, R. L. and Burget, G. C. (2008) “Concepts in Nasal Reconstructions”, *Principles of Cancer Reconstructive Surgery*, Springer, New York, USA, pp. 161-189.

10. Romani, J. and, Yebenes, M. (2007) “Repair of Surgical Defects of the Nasal Pyramid”, *Actas Dermo-Sifiliográficas*, no. 98, p. 302-311.

11. Cerratti, T. A., Neto, A. S. C., Vittorazzi, A., Barros, M. E. P. M. and Junior, J. A. F. (2012) “Using of the composite auricular graft in nasal reconstruction”, *Revista Brasileira de Cirurgia Plástica*, vol. 27, no. 4, pp. 640-643.

12. Peipl, A. D. (ed.) (2007) *Plasticheskaya i rekonstruktivnaya khirurgiya litsa* [Facial plastic and reconstructive surgery], BINOM. Laboratoriya znanii, Moscow, RU.

13. Steiger, J. D. (2011) “Bilobed flaps in nasal reconstruction”, *Facial plastic surgery clinics of North America*, vol. 19, pp. 107-111.

14. Vasil'ev, S. A. (2002) *Plasticheskaya khirurgiya v onkologii* [Plastic surgery in oncology], Publishing House of the Chelyabinsc State Medical Academy, Chelyabinsk, RU.

15. Monarca, C., Rizzo, M. I., Palmieri, A., Fino, P., Parisi, P. and Scuderi, N. (2012) "Island Pedicle and Bilobed Flaps in Ala and Back Nose Reconstruction: a Prospective Comparative Analysis", *Aesthetic Plastic Surgery*, vol. 18, no. 36 (5), pp. 1168-1174.

16. McCarthy, J. G., Lorenc, Z. P., Cutting, C. and Rachesky, M. (1985) "The median forehead flap: The blood supply", *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 76 (6), pp. 866-869.

17. Menick, F. J. (2002) "A ten-year experience in nasal reconstruction with the three-stage forehead flap", *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 109, pp. 1835-1839.

18. Limberg, A. A. (1963) *Planirovanie mestnoplasticheskikh operatsii* [Planning of the local plastic operations], Medgiz, Leningrad, RU.

19. Arzhantsev, P. Z., Malakhovskaya, V. I., Naumov, P. V. and Nerobeev, A. I. (1997) "Elimination of the middle-face defects», *Vosstanovitel'naya khirurgiya myagkikh tkanei chelyustno-litsevoi oblasti* [Reconstructive surgery of the soft tissue of the maxillo-facial region], Medicina, Moscow, RU, pp. 107-135.

20. Burget, G. C. and Menick, F. J. (1989) "Nasal support and lining: the marriage of beauty and blood supply", *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 84, pp. 189-202.

21. Ivanov, S. A. and Shlyaga, I. D. (2016) "Outcomes of reconstruction of nasal defects using allogene cartilage transplantation", *Problemy zdorov'ya i ekologii* [Problems of health and environment], 2016, no. 2 (48), pp. 100-105.

22. Swartz, W. M. (1988) "Microvascular approaches to nasal reconstruction", *Microsurgery*, vol. 9, pp. 50-153.

23. Menick, F. J. (2009) *Nasal Reconstruction: Art and Practice*, MOSBY Elsiever.

24. Baker, S. R. (2011) *Principles of Nasal Reconstruction,* Springer Science + Buiseness Media, New York, USA.

25. Zoltan, J. (1983) *Operatsionnaya tekhnika i usloviya optimal'nogo zazhivleniya ran* [Surgical techniques and backgrounds of optimal wound healing], Publishing House of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest, HU.

26. McKay, D. (2009) "Nasal Reconstruction", *Plastic Surgery: Clinical Problem Solving*, Mc Grow Hill Companies, New York, USA, pp. 58-62.

27. Thornton, J. F., Griffin, J. R. and Constantine, F. C. (2008) "Nasal Reconstruction: an Overview and Nuances", *Seminars in Plastic Surgery*, no. 22, pp. 257-268.

28. Vissarionov, V. A. and Karyakina, I. A. (2010) "Options of the surgical elimination of various defects of the distal part of the nose", *Sistemnaya integratsiya v zdravookhranenii* [System integration in healthcare], no. 1 (7), Available at: http://www. sys-int.ru/sites/default/files/sys_int_60_1_7_2010_0.pdf, (Accessed 5 August 2016).

29. Rahman, M. (2010) "The histology of facial aesthetic subunits: implications for common nasal reconstructive procedures", *Journal of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery*, no. 63 (5), pp. 753-756.

30. Ahmed, B. (2010) "Rehabilitaton of nose using silicone based maxillofacial prosthesis", *Journal of College of Physicians and Surgeons Pakistan*, vol. 20, pp. 65-67.

Информация об авторах

Иванов Сергей Анатольевич – канд. мед. наук, доцент кафедры онкологии. Гомельский государственный медицинский университет (ул. Ланге, 5, 246000, Гомель, Республика Беларусь). E-mail: srgivgm@rambler.ru

Шляга Ирина Дмитриевна – канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой ЛОР-болезней. Гомельский государственный медицинский университет (ул. Ланге, 5, 246000, Гомель, Республика Беларусь). E-mail: irina.shlyga@gmail.com

Иосиф Викторович Залуцкий – член-корреспондент НАН Беларуси, д-р мед. наук, профессор, директор Института физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: IZalutsky@gmail.com

Information about the authors

Ivanov Sergei Anatolievich – Ph. D., Associated Professor, Associated Professor of Oncology. Gomel State Medical University (5, Lange Str., 246000, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: srgivgm@rambler.ru

Shlyaga Irina Dmitrievna – Ph. D., Associated Professor, Head of Oncology. Gomel State Medical University (5, Lange Str., 246000, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: irina.shlyga@gmail.com

Zalutsky Iosif Victorovich – Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus, D. Sc. (Med.), Professor, Director of Physiology Institute the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: IZalutsky@gmail.com

Для цитирования

Иванов, С. А. Реконструкция наружного носа: история и современное состояние проблемы / С. А. Иванов, И. Д. Шляга, И. В. Залуцкий // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – № 4. – С. 96–102.

For citation

Ivanov S. A., Shlyaga I. V., Zalutsky I. V. Nasal reconstruction: history of procedure and current state of problem. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series*, 2016, no. 4, pp. 96–102.

ISSN 1814-6023 (print.)
УДК 616.833.53-009.7:616.831-026.567

Поступила в редакцию 16.08.2016
Received 16.08.2016

Л. Н. Анацкая, В. К. Забаровский, Т. В. Свинковская

Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ ВЕРТЕБРОГЕННЫХ ПОЯСНИЧНЫХ ДОРСАЛГИЙ НА НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТЬ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Показано, что переход острой вертеброгенной поясничной боли в подострую, рецидивирующую и хроническую обусловлен развитием дезадаптивного состояния нейропластичности центральной нервной системы в связи с аномальной функциональной, нейрохимической и анатомической модификацией нейронных сетей головного мозга (ГМ). В связи с этим диагностика пациентов с вертеброгенной рецидивирующей и хронической поясничной болью должна быть направлена на выявление не только скелетно-мышечных нарушений, но и изменений нейропластичности ГМ, а лечебно-восстановительные мероприятия – на улучшение церебральной нейропластичности. Одним из перспективных методов улучшения нейропластичности ГМ является мануальная и целевая тренирующая терапия.

Ключевые слова: вертеброгенные поясничные дорсалгии, нейропластичность головного мозга, мануальная терапии, целевая тренирующая терапия.

L. Anatskaia, V. Zabarovski, T. Svinkouskaya

Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Republic of Belarus

EFFECT OF LOW BACK PAIN ON CEREBRAL NEUROPLASTICITY

It is shown that development of subacute, recurrent and chronic low back pain is the result of maladaptive neuroplasticity condition of the central nervous system due to abnormal functional, neurochemical and anatomical modification of the brain neural networks. In this connection, a diagnostic study of patients with recurrent and chronic low back pain should be directed not only to the identification of musculoskeletal abnormalities, but also changes in cerebral neuroplasticity. Treatment and rehabilitation measures should be also aimed improving cerebral neuroplasticity. One of the promising methods for improving neuroplasticity are a manual therapy and targeted training therapy.

Keywords: low back pain, cerebral neuroplasticity, manipulative therapy, targeted training therapy.

Поясничные дорсалгии относятся к наиболее частым жалобам, с которыми пациенты обращаются как к участковому терапевту, так и к неврологу. В 30–60 % случаев в течение года наблюдается рецидив заболевания [1]. В США расходы на оказание помощи пациентам с поясничной болью составляют от одной четверти до одной трети всех расходов здравоохранения на их лечение [1]. Продолжающийся в настоящее время рост этих расходов во всем мире обусловлен в первую очередь увеличением группы пациентов с рецидивирующими и хроническими поясничными дорсалгиями. В первые 3 мес. полная ремиссия отмечалась только у 33 % пациентов, через 1 год с момента обострения болевой синдром сохранялся у 69 % пациентов европейских стран и США. После 6 мес. от начала обострения не смогли работать 16 % пациентов, повторные обострения через 12 мес. установлены у 62 %, повторяющиеся больничные листы – у 33 % [1]. У некоторых пациентов при неадекватной терапии практически сразу могла возникнуть генетически детерминированная центральная сенситизация болевого синдрома с активацией микроглии задних рогов спинного и белого вещества головного мозга (ГМ) и продуцированием ею воспалительных цитокинов и нейротрофинов [2]. В связи с этим актуальным является поиск комплексных методов лечения, направленных на предупреждение рецидивов и хронизации поясничной боли.

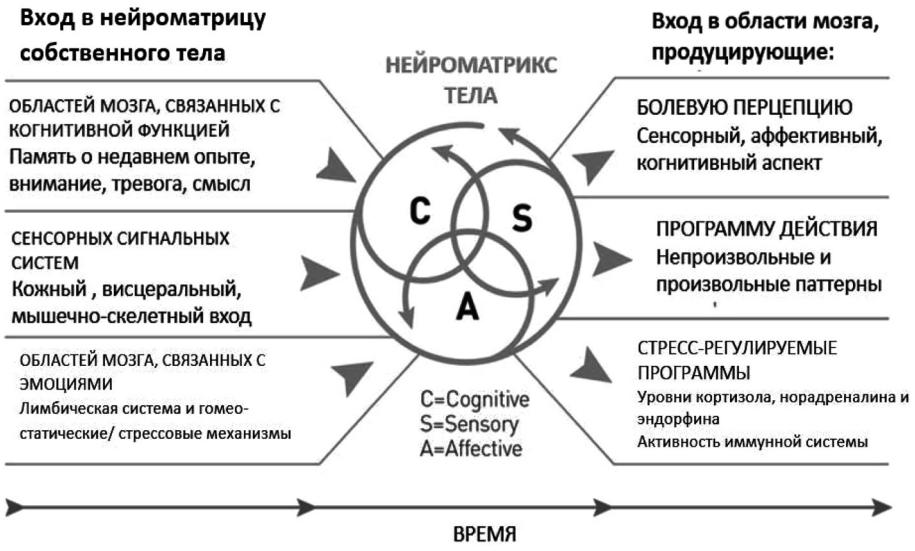
Долгое время в диагностике и лечении рецидивирующих вертеброгенных поясничных дорсалгий учитывались преимущественно локальные функциональные и дегенеративные изменения в заинтересованных поясничных позвоночных двигательных сегментах (ПДС) с регионарными функциональными нарушениями опорно-двигательного аппарата. Однако данный подход позволяет добиться успеха, как правило, только в лечении острой поясничной боли. При рецидивирующих, подострых и хронических вертеброгенных поясничных дорсалгиях объяснить многие

© Анацкая Л. Н., Забаровский В. К., Свинковская Т. В., 2016

проявления заболевания с помощью этой модели не удается. Исследования последних лет показали, что при рецидивирующих и хронических вертеброгенных поясничных болевых синдромах нарушается адекватная обработка афферентных сигналов, поступающих в мозг, что приводит к нарушению нейропластичности двигательной и чувствительной зон коры ГМ [3–7].

Боль представляет собой сознательное переживание, включающее интерпретацию болевых ноцицептивных стимулов под влиянием воспоминаний, а также эмоциональных, патологических, генетических и когнитивных факторов [3, 8]. Согласно теории «Нейроматрикс боли», предложенной Р. Мелзаком в 2001 г., боль – это не просто конечный продукт линейной системы сенсорной передачи ноцицептивного импульса. Боль – это многомерный опыт, полученный с помощью различных воздействий, которые варьируются в зависимости от существующей синаптической архитектуры нейроматрицы собственного тела [8]. Генетическая детерминированность и сенсорные влияния извне, изнутри и из других областей ГМ определяют синаптическую архитектуру индивидуального нейроматрикса, который интегрирует множество источников входящей информации, задает нейропаттерны боли и индуцирует сенсорные, эмоциональные и когнитивные аспекты болевого опыта и поведения. «Нейроматрица боли» включает в себя первичную и вторичную соматосенсорную кору, островковую и переднюю поясную кору ГМ, таламус. Первичная и вторичная соматосенсорная кора, таламус участвуют в сенсорно-дискриминационном компоненте оценки боли (локализации стимула, дискриминации интенсивности и качества дискриминации). Префронтальная кора ГМ связана с оценкой и ожиданием болевых ощущений [9], передняя поясная и островковая кора ГМ – с аффективно-мотивационным компонентом, который является неотъемлемой частью боли (эмоциональные реакции, возбуждение, сосредоточенность внимания на болевом раздражении) [10]. Недавние исследования позволили также определить нисходящую модулирующую систему боли, которая включает в себя активность префронтальной и передней поясной коры, околоводопроводного серого вещества ствола ГМ [11]. Афферентные сигналы, связанные с болевыми стимулами, ослабляются за счет высвобождения опиоидов в околоводопроводном сером веществе ГМ.

Точность, с которой мультисенсорная информация (временная, проприоцептивная и пространственная) о болевом событии впервые кодируется и представляется в ГМ, в последующем определяет степень выраженности и длительности болевого ответа на подобные события [12, 13]. При этом неточное кодирование первого мультисенсорного значимого болевого эпизода может привести к чрезмерно обобщающему ответу, в связи с чем процессы адаптации и защиты в дальнейшем становятся неадекватными и приводят к формированию хронического болевого синдрома [15].



Теория «Нейроматрикс боли» (R. Melzack, 2001[8])

The Neuromatrix Theory of Pain (R. Melzack, 2001 [8])

Изменение подвижности поясничных ПДС (гипомобильность, функциональная блокада, гипермобильность, нестабильность), неоптимальные двигательные стереотипы в различных отделах позвоночника могут приводить к активации периферических ноцицепторов, их неадекватной соматосенсорной обработке с последующей корковой сенсомоторной дезинтеграцией [14]. Изменения двигательных стереотипов как результат психомоторного ответа на механическую боль, стойкие изменения моторного контроля и ноцицептивной обработки могут сохраняться и после купирования поясничной боли, способствуя ее хронизации [15, 16]. В ответ на мультисистемную дисфункцию опорно-двигательного аппарата в силу процессов нейропластичности ЦНС реорганизуется. Изменения нейропластичности при вертеброгенных болевых синдромах проявляются в виде гипоактивности (торможения или снижения уровня активации) нейронов префронтальной зоны коры ГМ; гиперактивности нейронов области миндалины (возможно, вследствие большого объема нисходящей информации); значительного повышения уровней допамина и серотонина в области миндалины и их снижения в префронтальной коре ГМ; уменьшения объема серого вещества ГМ в височных и префронтальных долях и соматосенсорной коре, более выраженное в правой гемисфере и в стволе ГМ [17]. Согласно теории Г. Н. Крыжановского [10], в основе формирования патологической алгической системы лежит дефицит процессов, ингибирующих передачу ноцицептивной информации, а также функциональная недостаточность нисходящих антиноцицептивных систем.

Стресс или хроническая механическая микротравматизация поясничной области могут разрушить цикл обратной связи, приводя в конечном итоге к так называемой сенсомоторной амнезии и ограничению подвижности в поясничном отделе позвоночника. Сенсомоторная амнезия – это состояние, при котором некоторые нейроны сенсомоторной коры ГМ утрачивают функциональную способность управлять соответствующими группами скелетных мышц, переадресуя ее на уровень подкорковых рефлексов [10, 15]. Сенсомоторная амнезия – не что иное, как вариант патологической нейропластичности ГМ. Это состояние возникает чаще всего как реакция на повторяющийся стресс, развитие длительного болевого синдрома или является следствием травмы или операции, когда мозг не может «отключить» действие механизма, предохраняющего травмированный участок тела. Так, при хронической поясничной боли изменяется картирование сенсорной и моторной зон коры ГМ, происходит ее реорганизация с образованием новых нейрональных связей. Поэтому понимание роли афферентного вклада в изменение корковой нейропластичности является ключом к лечению и профилактике рецидивирующих вертеброгенных поясничных болевых синдромов.

Недавние исследования показали, что функциональные и структурные изменения в ЦНС пациентов с рецидивирующими дорсалгиями отражают адаптивные нейрофизиологические процессы [4]. Однако эти изменения могут сохраняться и после исчезновения механической причины боли, переходя в дезадаптивные, и тем самым способствовать хронизации болевого синдрома. Высказывалось предположение, что хронические дорсалгии являются результатом сенсомоторной корковой репрезентации, которая формирует дезадаптивную болевую память и приводит к изменению восприятия схемы собственного тела, поддерживая болевой синдром [4]. Так, за счет изменения картирования сенсорной и моторной зон коры ГМ представительство поясничной области в сенсорной коре ГМ может увеличиться по площади, смещаясь медиально, вторгаясь в корковое представительство нижней конечности. Данные изменения коркового представительства могут привести к появлению боли в ноге у пациентов с хронической люмбалгией в результате неправильной обработки афферентной информации в сенсорной зоне коры [15]. Степень выраженности корковых изменений нейропластичности в виде сенсомоторной дезинтеграции является ключевой нейрофизиологической особенностью, которая коррелирует с уровнем функционального восстановления пациента [16].

При вертеброгенных поясничных рецидивирующих и хронических болевых синдромах чаще всего нарушения нейропластичности ГМ обусловлены закреплением неадекватных моторных паттернов, которые приводят к перевозбуждению первичной сенсорной коры. Эти изменения обратимы, например, при уменьшении выраженности болевого синдрома после медитации с контролем дыхания и выполнения специального комплекса упражнений [12, 13, 16].

Исследование функциональной МРТ у пациентов с хроническими поясничными дорсалгиями при выполнении повседневных нагрузок в сравнении со здоровыми добровольцами показало снижение активности нейронов в саплементарной моторной зоне ГМ. Это обусловлено дисфункцией механизмов, которые связаны с планированием движения, упреждающего мониторинг осанки [3, 12]. В то же время снижение активности в передней теменной извилине и борозде указывало на имеющийся дефицит в процессе интеграции сенсорных входов. У пациентов с хронической поясничной болью установлено также неспецифическое расширение функциональных возможностей в нейросети моторной интеграции, что может свидетельствовать о неадекватных дезадаптивных изменениях сенсомоторной интеграции в виде гипервозбудимости или увеличенной потребности в нейронных ресурсах [14].

Международная ассоциация по изучению боли (IASP) определяет боль как неприятный сенсорный или эмоциональный опыт, связанный с реальным или потенциальным повреждением ткани или описанный в терминах такого повреждения. Это определение, основанное на концепции боли как восприятия, а не как чисто сенсорной модальности, учитывает тот факт, что для оценки сознательно испытываемой боли необходима ее когнитивная обработка [18]. Выдвинута гипотеза о том, что тесная связь нейронных систем, участвующих в процессе восприятия и обработки боли, может обусловливать их взаимную модуляцию [4]. Многие психологические и когнитивные факторы, в том числе внимание, эмоции, ожидания и предыдущий опыт, влияют на приобретенный опыт боли [18]. Присутствие постоянного болевого синдрома изменяет мотивированное поведение и схему принятия решений, может влиять на характер восприятия пациентом острой болевой стимуляции [19]. Переход острой боли в подострую, рецидивирующую и хроническую – дезадаптивное неадекватное состояние, которое характеризуется у некоторых пациентов аномальной функциональной и анатомической модификацией нейронных сетей ГМ, в том числе опосредующих аффективно-мотивационные аспекты болевого синдрома [20]. Следует отметить, что хронические болевые состояния часто сопровождаются аффективными, эмоциональными и когнитивными расстройствами (тревогой, депрессией, нарушением сна, когнитивным дефицитом). Эти клинические проявления были объективизированы с помощью функциональной МРТ как адаптивные изменения в системе нейронных схем поощрения/мотивации, которые могут усиливать эмоциональные и аффективные аспекты болевого синдрома [21]. Эмоциональные и когнитивные факторы могут также изменить восприятие боли, в частности путем модуляции (чаще всего ослабления) афферентной ноцицептивной сигнализации с помощью нисходящих путей и частично за счет переоценки негативных ощущений, доставляемых болью в пределах когнитивных и аффективных нейронных схем [19]. Поведение при болевом синдроме зависит от обеих конкурирующих мотиваций – вознаграждения, которое способствует уменьшению боли, и наказания, которое приводит к ее усилению, долгосрочной неврологической адаптации посредством модуляции цепей вознаграждения/мотивации. У пациентов, склонных к хронизации болевого синдрома, имеется сдвиг восприятии боли от сенсорной к эмоциональной области ГМ [21]. Поэтому морфологические и функциональные изменения в области нейронных схем поощрения/мотивации при хронической боли могут привести к возникновению коморбидных когнитивных и аффективных расстройств [19, 21]. Из изложенного выше следует, что методы лечения, направленные на устранение эмоциональных и когнитивных нарушений и модуляцию нейронных схем поощрения/мотивации, будут способствовать предупреждению хронизации болевого синдрома.

При функциональной МРТ и позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) у пациентов с хронической вертеброгенной поясничной болью, синдромом раздраженного кишечника, фибромиалгией, головной болью обнаруживаются изменения в разных структурах ГМ, участвующих в передаче ноцицептивного болевого импульса к передней поясной извилине, орбитофронтальной и инсулярной коре, а также в дорсальные отделы моста [12, 13]. Изменения серого вещества ГМ при хроническом болевом синдроме являются следствием постоянной ноцицептивной импульсации и могут быть обратимыми при его эффективном лечении [13]. С помощью морфометрического анализа обнаружено также снижение плотности серого вещества в дорсолатеральных отделах префронтальной коры и в правом таламусе, которые участвуют в процессах восприятия боли [22]. В других исследованиях установлено, что у пациентов с хронической болью на функциональной

МРТ отмечается меньшая активизация тех областей ГМ, которые активны при острой боли. Также увеличивается активность зон ГМ, которые не являются непосредственной частью спиноталамического пути (преимущественно префронтальной коры ГМ и связанных с ней подкорковых структур) [22]. При этом активность дорсолатеральных отделов префронтальной коры способна оказывать ингибирующее воздействие на активность ее медиальных отделов, и наоборот. Данный вид торможения отмечается у пациентов с поясничными досалгиями на функциональной МРТ. Предполагают, что степень атрофии дорсолатеральных отделов коры ГМ связана с активностью ее медиальных отделов и вносит вклад в формирование боли [3].

С помощью функциональной МРТ ГМ показано, что в раннем периоде новых романтических отношений, характеризующихся интенсивным чувством эйфории, благополучия и восхищения партнером, активизируется нейросеть вознаграждения [21]. Фундаментальные исследования на животных продемонстрировали, что фармакологическая активация нейронной сети вознаграждения в ГМ может существенно уменьшить выраженность болевого синдрома. Исследование недавно влюбившихся 15 человек, у которых экспериментально вызывали боль, показало, что просмотр фотографий, на которых были изображены их романтические партнеры, приводил к активации нейросетей вознаграждения и уменьшению на 44 % интенсивности экспериментально вызванного умеренно выраженного болевого синдрома. Обезболивание во время просмотра фотографии романтического партнера было связано с повышенной активностью нейронов в нескольких участках нейронной сети поощрений, в том числе головке хвостатого ядра, прилежащего ядра, латеральной орбитофронтальной коре, миндалине и дорсолатеральной префронтальной коре.

Наряду с такими высокотехнологичными методами, как функциональная МРТ и ПЭТ, регистрация вызванных потенциалов мозга является объективным нейрофизиологическим неинвазивным методом диагностики, позволяющим оценивать функциональное состояние структур нервной системы на разных уровнях. Соматосенсорные вызванные потенциалы (ССВП) тесно взаимосвязаны с восприятием боли и ее интенсивностью и отражают изменения в периферической и центральной нервной системе [2, 6]. Показано, что хроническая боль связана с утратой тонуса ингибирования тактильных афферентов [23]. Это может повлиять на количественные характеристики ССВП при стимуляции срединных и малоберцовых нервов у пациентов с рецидивирующей и хронической поясничной болью. Исследование ССВП и моторных вызванных потенциалов, являющихся нейрофизиологическими маркерами нейропластичности ГМ, позволяет оценить возбудимость первичной сенсорной и первичной моторной коры у пациентов с рецидивирующими поясничными дорсалгиями до и после курса лечения [24]. При хронической поясничной боли изменяется картирование сенсорной и моторной зон коры ГМ, происходит их реорганизация [4]. Так, представительство нижней части спины в области сенсорной зоны коры ГМ может увеличиваться по площади, смещаясь медиально и накладываясь на область ноги. Данные изменения могут привести к появлению боли в ноге у пациентов с хронической люмбалгией в результате неправильной обработки афферентной информации в сенсорной зоне коры. Установлено, что нарушения нейропластичности ГМ обусловлены закреплением неадекватных моторных паттернов, которые приводят к перевозбуждению первичной сенсорной коры [7].

Событийно вызванные потенциалы в когнитивной области Р300 представляют собой волну положительного отклонения в пределах парадигмы «чудака». В этой парадигме ряд сменяющихся раздражителей (слуховых или визуальных) используется для оценки нейрореакции на непредсказуемые, но узнаваемые события. Электрофизическая реакция на церебральном уровне (Р300) менее выражена и, как правило, отсрочена у пациентов с когнитивным снижением в сравнении со здоровыми лицами. В связи с этим Р300 часто используется для изучения дезадаптивной нейропластичности ГМ у пациентов с болевыми синдромами [25]. У пациентов, страдающих хроническим болевым синдромом, установлено значительное увеличение латентности Р300, что указывает на задержку когнитивной обработки слуховых сигналов и, кроме того, предполагает изменения во взаимодействии между различными функциональными участками мозга [26, 27]. При этом показано, что адекватная терапия способна нормализовать параметры Р300 [27].

С помощью сравнительного анализа параметров и топографического распределения когнитивного потенциала Р300 у 60 пациентов в возрасте от 22 до 60 лет с хронической вертеброгенной поясничной болью установлено замедление процессов распознавания и дифференцировки, процессов направленного внимания, а также скорости переработки информации. Применение методики выделения Р300 с использованием эмоционально значимых стимулов дает возможность изучить особенности хронизации болевых синдромов и выявить присутствие в ЦНС «болевой памяти». Определение параметров Р300 в динамике позволяет оценить эффективность проводимого лечения и в случае необходимости своевременно его оптимизировать [27].

Установлено, что мощность ЭЭГ в θ-, δ-, и β-диапазонах увеличивается с нарастанием интенсивности болевого синдрома. Через месяц после операции на таламусе по поводу хронического болевого синдрома регистрировалось уменьшение избыточной θ-мощности ЭЭГ, а через 12 мес. – приближение ее к норме. Уменьшение α-мощности (~8–13 Гц) наблюдалось при кожной болевой стимуляции. В связи с этим мощность ЭЭГ была признана одним из маркеров реорганизации первичной соматосенсорной коры [28]. При ЭЭГ-исследовании пациентов с хронической поясничной болью отмечалось увеличение амплитуды ЭЭГ при произнесении слов, возобновляющих память о болевом синдроме [29]. В этой группе пациентов в период сна на ЭЭГ отмечалась активность в области префронтальной медиальной коры, в то время как у здоровых лиц этой активности не зарегистрировано. Повышение электрической активности мозга влияет на обработку ноцицептивных афферентных болевых импульсов. При длительном болевом синдроме уменьшается амплитуда α-ритма. На ЭЭГ может появляться высокочастотная нерегулярная активность β-диапазона [29]. Спектральный анализ ЭЭГ показал, что на фоне хронизации болевого синдрома в спектре мощности ЭЭГ исчезает доминантный пик в области α-ритма, спектр уплощается с равномерным распределением мощности по всем основным частотам в результате десинхронизации активности нейронов и дисбаланса между возбуждающими и ингибирующими процессами в системе лимбикоретикулярного комплекса [29].

Полученные новые данные об изменении нейропластичности ГМ при рецидивирующих и хронических болевых синдромах позволили ученым прийти к выводу, что улучшение корковой нейропластичности ГМ является существенным потенциалом в повышении эффективности лечения пациентов с рецидивирующими и хроническими дорсалгиями [4]. Имеется ряд неинвазивных методов лечения, которые, обладая периферическим и центральным нейромодуляторным эффектом, способны улучшать корковую нейропластичность у пациентов с вертеброгенными болевыми синдромами [30–35]. В немногочисленных недавних исследованиях было показано, что манипуляционная техника мануальной терапии (МТ), проведенная на позвоночных двигательных сегментах, а также тренирующая терапия и закрепление адекватных двигательных профессиональных и бытовых паттернов позволяют не только уменьшить боль и улучшить двигательную функцию, но и способствуют реорганизации и нормализации корковой нейропластичности, что в свою очередь дает возможность не только восстанавливать, но и увеличивать трудоспособность [31]. С помощью моторных вызванных потенциалов продемонстрировано, что закрепление новых моторных паттернов способствует увеличению моторной корковой возбудимости за счет увеличения афферентного входа [35]. Улучшение моторных навыков позволяет также ускорить процесс восстановления коркового представительства в моторной коре [34].

При вертеброгенных дорсалгиях МТ является сенсорным событием для пациента. МТ способствует стимуляции рецепторов кожи и мышечно-скелетной системы [36, 37]. Главным образом стимулируются проприорецепторы, располагающиеся на двух анатомических уровнях – поверхностном и глубоком. Различные мануальные техники способны стимулировать разные типы проприорецепторов. Стимуляция последних при МТ приводит к стимуляции сенсорной сигнальной системы нейроматрикса тела [38, 39]. Терапевтические техники МТ, представляющие на сенсорном уровне определенный психодинамический опыт для пациента, по форме и цели разделяются на два вида. Экспрессивные техники направлены на стимуляцию хорошего общего самочувствия пациента и его выздоровление. Тактильный контакт при экспрессивной технике поддерживает пациента, расслабляет его, создает чувство комфорта. Экспрессивные техники МТ способны

модулировать нейросети матрицы боли, изменяя эмоциональную оценку боли [35, 37]. Инструментальные техники направлены на чисто механическое восстановление ткани. Динамические техники МТ, активизируя механорецепторы, расположенные в капсулах фасеточных суставов, вызывают торможение ноцицептивного потока и, соответственно, уменьшают порог восприятия боли [35].

Немедленный лечебный эффект манипуляционной техники часто вызван стимуляцией дорзальных ядер и возбуждением симпатического отдела нервной системы [34]. В течение 10–45 мин после манипуляции происходит стимуляция вентральной области ГМ с торможением симпатической нервной системы [34]. Мануальная терапия наиболее эффективна у пациентов с прямой связью между центральным нейроном дорзальных ядер и периферическим спинальным нейроном за счет их компактного расположения [34]. У пациентов с диффузными взаимосвязями нейронов наблюдается вялый симпатовозбуждающий ответ и отсутствует адекватный обезболивающий эффект [35]. Так как моторная система легко контролируется мыслительными и волевыми процессами и отвечает на различного рода двигательную активность, то МТ является методом реабилитации нейромышечной дисфункции. Нейромышечные техники МТ требуют целенаправленного активного участия пациента, стимулируя волевые усилия и когнитивные функции, восстанавливая реципрокные взаимоотношения различных мышечных групп, способствуя сенсомоторной модуляции.

Исследование, проведенное на 19 добровольцах с субклиническими признаками дорсалгий, продемонстрировало достоверное уменьшение амплитуды пика N30 ССВП после проведенного сеанса манипуляционной техники на поясничных ПДС с функциональной блокадой ($p = 0{,}02$), что в свою очередь свидетельствовало о значимом уменьшении возбуждения в префронтальной коре ГМ ($p = 0{,}03$) [37]. Префронтальная кора отвечает за исполнительную функцию, с помощью которой мозг интегрирует и координирует операции нескольких нейронных систем для решения задач и достижения целей, основанных на постоянно меняющихся условиях окружающей среды [6]. Исполнительная функция включает в себя планирование последовательности решения подзадач для достижения цели, сосредоточенности внимания на соответствующей информации и подавления несвязанной, отвлекающей от достижения цели информации. Происходит переключение внимания между задачами, мониторинг памяти, инициирование деятельности и адекватный ответ на возникающие стимулы [22].

После комплексного применения МТ и кинезиотейпирования у пациентов с вертеброгенными поясничными дорсалгиями с помощью ССВП установлено значимое уменьшение времени проведения сенсорного импульса от верхнепоясничного уровня спинного мозга до первичной сенсорной коры при стимуляции большеберцовых нервов и на шейно-стволовом и корковом уровнях при стимуляции срединных нервов. Спектральный анализ ЭЭГ выявил значимое увеличение индекса α-ритма ($p < 0{,}05$) с одновременным повышением его максимальной амплитуды и пиковой мощности и достоверным снижением индекса медленноволновой активности θ-диапазона в лобно-центральных отведениях после курса МТ и кинезиотейпирования [39].

Установлено, что улучшение корковой нейропластичности в значительной мере влияет на эффективность реабилитации данной категории пациентов. При использовании мыслительных образов определенные виды движений сознательно усиливаются или замещаются их образным повторением [9]. Данный подход широко применяется в спортивной медицине и при болевых синдромах, позволяя улучшить силу и производительность двигательного акта и вызвать одновременные изменения в соответствующей области мозга, участвующей в выполнении целенаправленных упражнений [33].

Таким образом, рецидивирующая и хроническая поясничная боль – это дезадаптивное состояние нейропластичности центральной нервной системы, характеризующееся неадекватной функциональной и анатомической модификацией нейронных сетей ГМ, в том числе опосредующих аффективно-мотивационные и когнитивные аспекты болевого синдрома. Поиск новых диагностических маркеров нарушения корковой нейропластичности при поясничных дорсалгиях является весьма актуальным. Полученные новые данные об изменении нейропластичности ГМ

при рецидивирующих и хронических болевых синдромах позволили прийти к выводу, что улучшение корковой нейропластичности ГМ является существенным потенциалом в повышении эффективности лечения пациентов с рецидивирующими и хроническими дорсалгиями. Одним из многообещающих методов улучшения корковой нейропластичности ГМ и повышения эффективности лечения пациентов с рецидивирующими и хроническими дорсалгиями является мануальная и целевая тренирующая терапия.

Список использованных источников

1. A systematic review of the global prevalence of low back pain / D. Hoy [et al.] // Arthritis & Rheumatism. – 2012. – Vol. 64, N 6. – P. 2028–2037.

2. Cellular and molecular mechanisms of pain / A. I. Basbaum [et al.] // J. Cell. – 2009. – Vol. 139, issue 2. – P. 267–284.

3. Davis, K. D. Central mechanisms of pain revealed through functional and structural MRI / K. D. Davis, M. Moayedi // J. Neuroimmune Pharmacol. – 2013. – Vol. 8, N 3. – P. 518–534.

4. Moseley, G. L. Targeting cortical representations in the treatment of chronic pain: a review / G. L. Moseley, H. Flor // Neurorehabil. Neural. Repair. – 2012. – Vol. 26, N 6. – P. 646–652.

5. Pain ratings, psychological functioning and quantitative EEG in a controlled study of chronic back pain patients / S. Schmidt [et al.] // PLoS ONE. – 2012. – Vol. 7, N 3. – P. 31138.

6. Puretic, M. B. Neuroplasticity mechanisms in the pathophysiology of chronic pain / M. B. Puretić, V. Demarin // Acta Clin. Croat. – 2012. – Vol. 51, N 2. – P. 425–429.

7. Tsao, H. Driving plasticity in the motor cortex in recurrent low back pain / H. Tsao, M. P. Galea, P. W. Hodges // Eur. J. Pain. – 2010. – Vol. 14, N 8. – P. 832–839.

8. Melzack, R. Pain and the neuromatrix in the brain / R. Melzack // J. of Dental Education. – 2001. – Vol. 65, N 12. – P. 1378–1382.

9. Moseley, G. L. Beyond nociception: the imprecision hypothesis of chronic pain / G. L. Moseley, J. W. Vlaeyen // Pain. – 2015. – Vol. 156, N 1. – P. 35–38.

10. *Крыжановский, Г. Н.* Центральные механизмы патологической боли / Г. Н. Крыжановский // Журн. неврологии и психиатрии им. Корсакова. – 1999. – № 12. – С. 4–7.

11. Nakata, H. Meditation reduces pain-related neural activity in the anterior cingulate cortex, insula, secondary somatosensory cortex, and thalamus / H. Nakata, K. Sakamoto, R. Kakigi // Frontiers in Psychol. – 2014. – Vol. 5. – P. 1–12.

12. Lee, M. C. Imaging pain: a potent means for investigating pain mechanisms in patients / M. C. Lee, I. Tracey // Br. J. of Anaesthesia. – 2013. – Vol. 111, N 1. – P. 64–72.

13. Henry, D. E. Central nervous system reorganization in a variety of chronic pain states: a review / D. E. Henry, A. E. Chiodo, W. Yang // PM & R: The J. of Injury, Function, and Rehabilitation. – 2011. – Vol. 3, N 12. – P. 1116–1125.

14. Legrain, V. The pain matrix reloaded: a salience detection system for the body / V. Legrain, G. D. Iannetti, L. Plaghki // Prog. Neurobiol. – 2011. – Vol. 93. – P. 111–124.

15. Hodges, P. W. Moving differently in pain: a new theory to explain the adaptation to pain / P. W. Hodges, K. Tucker // Pain. – 2011. – Vol. 152. – P. S90–S98.

16. Effective treatment of chronic low back pain in humans reverses abnormal brain anatomy and function / D. A. Seminowicz [et al.] // J. Neurosci. – 2011. – Vol. 1, N 20. – P. 7540–7550.

17. Vigotsky, A. D. The Role of Descending Modulation in Manual Therapy and Its Analgesic Implications: a Narrative Review / A. D. Vigotsky, R. P. Bruhns // Hindawi Publishing Corporation: Pain Research and Treatment. – 2015. – Vol. 2015. – Article ID 292805. – 11 p.

18. Evaluation of reward from pain relief / E. Navratilova [et al.] // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2013. – Vol. 1282. – P. 1–11.

19. Cognition and emotional decision-making in chronic low back pain: an ERPs study during Iowa gambling task / S. Tamburin [et al.] // Frontiers in Psychol. – 2014. – Vol. 5. – P. 1–11.

20. Moriarty, O. The effect of pain on cognitive function: a review of clinical and preclinical research / O. Moriarty // Progress in Neurobiol. – 2011. – Vol. 93. – P. 385–404.

21. Viewing Pictures of a Romantic Partner Reduces Experimental Pain: Involvement of Neural Reward Systems / J. Younger [et al.] // PLoS ONE. – 2010. – Vol. 5, N 10. e13309.

22. Funahashi, S. Prefrontal cortex and neural mechanisms of executive function / S. Funahashi, J. M. Andreau // J. of Physiol. – Paris, 2013. – Vol. 107, N 6. – P. 471–482.

23. Гнездицкий, В. В. Вызванные потенциалы мозга в клинической практике / В. В. Гнездицкий – М.: МЕДпресс-информ, 2003. – 264 с.

24. Bael, S.-H. The Effects of Sensorimotor Training Applied to Chronic Low Back Pain Patients on Their Pain and Change in Excitability of Cerebral Cortex Neurons / S.-H. Bael, J.-Ah. Hwang, K.-Y. Kim // Inter. J. of Bio-Sci. and Bio-Technol. – 2014. – Vol. 6, N 4. – P. 33–44.

25. Causality in the association between P300 and alpha event-related desynchronization / W. Peng [et al.] // PLos ONE. – 2012. – Vol. 7, N 4. e34163.

26. Кузнецова, Е. А. Изменения когнитивных вызванных потенциалов (Р300) при хронических ежедневных головных болях / Е. А. Кузнецова, Э. З. Якупов // Казан. мед. журн. – 2011. – Т. 92, № 1. – С. 17–19.

27. Рачин, А. П. Изменение параметров вызванного потенциала р300 в зависимости от степени обострения болевого синдрома / А. П. Рачин, А. А. Аверченкова // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2012. – № 2. – С. 52–55.

28. Bazanova, O. M. Interpreting EEG alpha activity / O. M. Bazanova, D. Vernon // Neurosci. Biobehav. Rev. – 2014. – Vol. 44. – P. 94–110.

29. Baliki, M. N. The cortical rhythms of chronic back pain / M. N. Baliki, A. T. Baria, A. V. Apkarian // J. Neurosci. – 2011. – Vol. 31, N 39. – P. 13981–13990.

30. Effective treatment of chronic low back pain in humans reverses abnormal brain anatomy and function / D. A. Seminowicz [et al.] // J. Neurosci. – 2011. – Vol. 1, N 20. – P. 7540–7550.

31. Supervised exercise, spinal manipulation, and home exercise for chronic low back pain: a randomized clinical trial / G. Bronfort [et al.] // The Spine J. – 2011. – Vol. 11, N 7. – P. 585–598.

32. Clark, N. C. Proprioception in musculoskeletal rehabilitation. Part 2: Clinical assessment and intervention / N. C. Clark, V. Roijezon, J. Treleaven // Manual therapy. – 2015. – Vol. 20, N 3. – P. 378–387.

33. Effects of postural specific sensorimotor training in patients with chronic low back pain: study protocol for randomised controlled trial / M. A. McCaskey [et al.] // Trials. – 2015. – N 16. – P. 571.

34. The mechanisms of manual therapy in the treatment of musculoskeletal pain: a comprehensive model / J. E. Bialosky [et al.] // Manual therapy. – 2009. – Vol. 14, N 5. – P. 531–538.

35. Fluctuations of prestimulus oscillatory power predict subjective perception of tactile simultaneit // J. Lange [et al.] // Cereb. Cortex. – 2012. – Vol. 22. – P. 2564–2574.

36. Забаровский, В. К. Механизмы действия мануальной терапии / В. К. Забаровский // Мед. новости. – 2008. – № 1. – С. 7–12.

37. Manipulation of dysfunctional spinal joints affects sensorimotor integration in the prefrontal cortex: a brain source localization study / D. Lelic [et al.] // Hindawi Publishing Corporation: Neural Plasticity. – 2016. – Vol. 2016. – 9 p.

38. Effects of proprioceptive exercises on pain and function in chronic neck- and low back pain rehabilitation: a systematic literature review BMC / M. A. McCaskey [et al.] // BMC Musculoskeletal Disorders. – 2014. – Vol. 15. – P. 1–17.

39. Анацкая, Л. Н. Нейропластический эффект комплексного применения мануальной терапии и кинезиотейпирования у пациентов с вертеброгенными дорсалгиями / Л. Н. Анацкая, Т. В. Свинковская, В. К. Забаровский // Мед. Новости. – 2015. – № 8. – С. 55–60.

References

1. Hoy, D., Bain, C., Williams, G., March, L., Brooks, P., Blyth, F., Woolf, A., Vos, T. and Rachelle Buchbinder, R. (2012) "A systematic review of the global prevalence of low back pain", *Arthritis and Rheumatism*, vol. 64, no. 6, pp. 2028-2037.

2. Basbaum, A. I., Bautista, D. M., Scherrer, G. and Julius, D. (2009) "Cellular and molecular mechanisms of pain", *Cell*, vol. 139, no. 2, pp. 267-284.

3. Davis, K. D. and Moayedi, M. (2013) "Central mechanisms of pain revealed through functional and structural MRI", *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, vol. 8, no. 3, pp. 518-534.

4. Moseley, G. L. and Flor, H. (2012) "Targeting cortical representations in the treatment of chronic pain: a review", *Neurorehabilitation and Neural Repair*, vol. 26, no. 6, pp. 646-652.

5. Schmidt, S., Naranjo, J. R., Brenneisen, C., Gundlach, J., Schultz,C., Kaube, H., Hinterberger, T. and Jeanmonod, D. (2012) "Pain Ratings, Psychological Functioning and Quantitative EEG in a Controlled Study of Chronic Back Pain Patients", *PLoS ONE*, vol. 7, no. 3, p. e31138.

6. Puretic, M. B. and Demarin, V. (2012) "Neuroplasticity mechanisms in the pathophysiology of chronic pain", *Acta clinica Croatica*, vol. 51, no. 2, pp. 425-429.

7. Tsao, H., Galea, M. P. and Hodges, P. W. (2010) "Driving plasticity in the motor cortex in recurrent low back pain", *European Journal of Pain*, vol. 14, no. 8, pp. 832-839.

8. Melzack, R. (2001) "Pain and the neuromatrix in the brain", *Journal of Dental Education*, vol. 65, no. 12, pp. 1378-1382.

9. Moseley, G. L. and Vlaeyen, J. W. (2015) "Beyond nociception: the imprecision hypothesis of chronic pain", *Pain*, vol. 156, no. 1, pp. 35-38.

10. Kryzhanovskii, G. N. (1999) "Central mechanisms of pathological pain", *Zhurnal nevrologii i psikhiatrii im. S. S. Korsakova* [Journal of Neurology and Psychiatry named after S. S. Korsakov], no. 12, pp. 4-7.

11. Nakata, H., Sakamoto, K. and Kakigi, R. (2014) "Meditation reduces pain-related neural activity in the anterior cingulate cortex, insula, secondary somatosensory cortex, and thalamus", *Frontiers in Psychology*, vol. 5, pp. 1-12.

12. Lee, M. C. and Tracey, I. (2013) "Imaging pain: a potent means for investigating pain mechanisms in patients", *British Journal of Anesthesia*, vol. 111, no. 1, pp. 64-72.

13. Henry, D. E., Chiodo, A. E. and Yang, W. (2011) "Central nervous system reorganization in a variety of chronic pain states: a review", *PM & R: The Journal Of Injury, Function, and Rehabilitation*, vol. 3, no. 12, pp. 1116-1125.

14. Legrain, V., Iannetti, G. D. and Plaghki, L. (2011) "The pain matrix reloaded: a salience detection system for the body", *Progress in Neurobiology*, vol. 93, pp. 111-124.

15. Hodges, P. W. and Tucker, K. (2011) "Moving differently in pain: a new theory to explain the adaptation to pain", *PAIN*, vol. 152, pp. S90-S98.

16. Seminowicz, D. A., Wideman, T. H., Naso, L., Hatami-Khoroushahi, Z. and Fallatah, S. (2011) "Effective treatment of chronic low back pain in humans reverses abnormal brain anatomy and function", *Journal of Neuroscience*, vol. 1, no. 20, pp. 7540-7550.

17. Vigotsky, A. D. and Bruhns, R. P. (2015) "The Role of Descending Modulation in Manual Therapy and Its Analgesic Implications: a Narrative Review», *Hindawi Publishing Corporation, Pain Research and Treatmen*, vol. 2015, Article ID 292805, 11 p.

18. Navratilova, E., Xie, J. Y., King, T. and Porreca, F. (2013) "Evaluation of reward from pain relief", *Annals of New York Academy of Sciences*, vol. 1282, pp. 1-11.

19. Tamburin, S., Maier, A., Schiff, S., Lauriola, M. F., Rosa, E. D., Zanette, G. and Mapelli, D. (2014) "Cognition and emotional decision-making in chronic low back pain: an ERPs study during Iowa gambling task", *Frontiers in Psychology*, vol. 5, pp. 1-11.

20. Moriarty, O. (2011) "The effect of pain on cognitive function: a review of clinical and preclinical research", *Progress in Neurobiology*, vol. 93, pp. 385-404.

21. Younger, J., Aron, A., Parke, S., Chatterjee, N. and Mackey, S. (2010) "Viewing pictures of a romantic partner reduces experimental pain: involvement of neural reward systems", *PLoS ONE*, vol. 5, no. 10, p. e13309.

22. Funahashi, S. and Andreau, J. M. (2013) "Prefrontal cortex and neural mechanisms of executive function", *Journal of Physiology, Paris*, vol. 107, no. 6, pp. 471-482.

23. Gnezditskii, V. V. (2003) *Vyzvannye potentsyaly mozga v klinicheskoi praktike* [Evoked Brain Potentials in Clinical Practice], MEDpress-information, Moscow, RU.

24. Bael S.-H., Hwang,, J.-Ah and Kim, K.-Y. (2014) "The Effects of Sensorimotor Training Applied to Chronic Low Back Pain Patients on Their Pain and Change in Excitability of Cerebral Cortex Neurons", *International Journal of Biological Science and Technology*, vol. 6, no. 4, pp. 33-44.

25. Peng, W., Hu, L., Zhang, Z. and Hu, Y. (2012) "Causality in the association between P300 and alpha event-related desynchronization", *PLos ONE*, vol. 7, no. 4, p. e34163.

26. Kuznetsova, E. A. and Yakupov, E. Z. (2011) "Changes in the cognitive evoked potentials (P300) during chronic daily headaches", *Kazanskii meditsinskii zhurnal* [Kazan Medical Journal], vol. 92, no. 1, pp. 17-19.

27. Rachin, A. P. and Averchenkova, A. A. (2012) "Change in the parameters of P300 evoked potentials in relation to the degree of exacerbation of pain syndrome", *Nevrologiya, Neiropsikhiatriya, Psikhosomatika* [Neurology, neuropsychiatry, Psychosomatics], no. 2, pp. 52-55.

28. Bazanova, O. M. and Vernon, D. (2014) "Interpreting EEG alpha activity", *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 44, pp. 94-110.

29. Baliki, M. N., Baria, A. T. and Apkarian, A. V. (2011) "The cortical rhythms of chronic back pain", *Journal of Neuroscience*, vol. 31, no. 39, pp. 13981-13990.

30. Seminowicz, D. A., Wideman, T. H., Naso, L., Hatami-Khoroushahi, Z., Fallatah, S., Ware, M. A., Jarzem, P., Bushnell, M. C., Shir, Y., Ouellet, J. A. and Stone, L. S. (2011) "Effective treatment of chronic low back pain in humans reverses abnormal brain anatomy and function", *Journal of Neuroscience*, vol. 1, no. 20, pp. 7540-7550.

31. Bronfort, G., Maiers, M. J., Evans, R. L., Schulz, C. A. and Bracha, Y. (2011) "Supervised exercise, spinal manipulation, and home exercise for chronic low back pain: a randomized clinical trial", *The Spine Journal*, vol. 11, no. 7, pp. 585-598.

32. Clark, N. C., Roijezon, V. and Treleaven, J. (2015) "Proprioception in musculoskeletal rehabilitation. Part 2: Clinical assessment and intervention", *Manual therapy*, vol. 20, no. 3, pp. 378-387.

33. McCaskey, M. A., Schuster-Amft, C., Wirth, B. and de Bruin, E. D. (2015) "Effects of postural specific sensorimotor training in patients with chronic low back pain: study protocol for randomised controlled trial", *Trials*, no. 16, p. 571.

34. Bialosky, J. E., Bishop, M. D., Price, D. D., Robinson, M. E. and George, S. Z. (2009) "The mechanisms of manual therapy in the treatment of musculoskeletal pain: a comprehensive model", *Manual therapy*, vol. 14, no. 5, pp. 531-538.

35. Lange, J., Halacz, J., van Dijk, H., Kahlbrock, N. and Schnitzler, A. (2012) "Fluctuations of prestimulus oscillatory power predict subjective perception of tactile simultaneit", *Cerebral Cortex*, vol. 22, p. 2564-2574.

36. Zabarovskii, V. (2008) "Mechanisms of action of manual therapy", *Meditsynskie novosti* [Medical news], no. 1, pp. 7-12.

37. Lelic, D., Niazi, I. K., Holt, K., Jochumsen, M., Dremstrup, K., Yielder, P., Murphy, B., Drewes, A. M. and Haavik, H. (2016) "Manipulation of dysfunctional spinal joints affects sensorimotor integration in the prefrontal cortex: a brain source localization study", *Hindawi Publishing Corporation, Neural Plasticity*, vol. 2016, article ID 3704964, 9 p.

38. McCaskey, M. A., Schuster-Amft, C., Wirth, B., Suica, Z. and de Bruin, E. D. (2014) "Effects of proprioceptive exercises on pain and function in chronic neck- and low back pain rehabilitation: a systematic literature review BMC", *Musculoskeletal Disorders*, vol. 15, p. 382.

39. Anatskaya, L., Svinkovskaya, T. and Zabarovskii, V. (2015) "Neuroplasticity effects of manipulative therapy and kinesio taping complex application in patients with low back pain", *Meditsinskie novosti* [Medical news], no. 8, pp. 55-60.

Информация об авторах

Анацкая Людмила Николаевна – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник неврологического отдела. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: anatskaia@tut.by

Information about the authors

Ludmila Anatskaia – M. D., Ph. D. (Med.), Chief Researcher fellow, Research Department of Neurology. Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anatskaia@tut.by

Забаровский Виталий Константинович – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник неврологического отдела. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: zabarovski@tut.by

Свинковская Татьяна Владимировна – врач отделения функциональной диагностики. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kuprac@mail.ru

Vitali Zabarovski – M. D., Ph. D., Chief Researcher fellow, Research Department of Neurology. Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zabarovski@tut.by

Svinkouskaya Tatstsyana – M. D., Neurophysiology Diagnostics Department. Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kuprac@mail.ru

Для цитирования

Анацкая, Л. Н. Влияние вертеброгенных поясничных дорсалгий на нейропластичность головного мозга / Л. Н. Анацкая, В. К. Забаровский, Т. В. Свинковская // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – № 4. – С. 103–113.

For citation

Anatskaia L., Zabarovski V., Svinkouskaya T. Effect of low back pain on cerebral neuroplasticity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series*, 2016, no. 4, pp. 103–113.

ISSN 1814-6023 (print)
УДК 616.98:557.212

Поступила в редакцию 27.07.2016
Received 27.07.2016

Л. К. Суркова[1], В. В. Слизень[2], О. М. Залуцкая[1]

[1]Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии, Минск, Республика Беларусь
[2]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА: СВЯЗЬ С РАСПРОСТРАНЕННОСТЬЮ, ТЕЧЕНИЕМ И ИСХОДОМ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Представлен краткий обзор и анализ современной литературы по молекулярно-генетическим особенностям возбудителя туберкулеза и генетическим факторам макроорганизма, которые могут влиять на распространение и характер течения заболевания и обеспечивают восприимчивость/устойчивость к туберкулезу.

Генотип Beijing играет ключевую роль в распространении возбудителя туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью, 58,0 % изолятов микобактерий туберкулеза, полученных из разных регионов Республики Беларусь относились к генотипу Beijing и имели идентичный MIRU VNTR профиль. В основе лекарственной резистентности лежат мутации в генах, участвующих в формировании устойчивости к изониазиду (*katG*, *inhA, acpM-kasA),* рифампицину (*rpoB*), стрептомицину (*rrs*, *rpsL*), этамбутолу (*embB*), этионамиду (*inhA*), пиразинамиду (*pncA*), антибиотикам группы фторхинолонов (*gyrA).*

Ключевые слова: структура генома микобактерий туберкулеза; основные группы генов и их функции; генетические факторы макроорганизма, ассоциированные с резистентностью/восприимчивостью к туберкулезной инфекции; генетические варианты возбудителя туберкулеза, их географическое распространение; молекулярные механизмы резистентности; структура мутаций в генах, ассоциированных с лекарственной устойчивостью.

L. K. Surkova[1], V. V. Slizen[2], O. M. Zalutskaya[1]

[1]Republican Scientific-Practical Center of Pulmonology and Tuberculosis, Minsk, Republic of Belarus
[2]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

CORRELATION BETWEEN MOLECULAR-GENETIC CHARACTERISTICS OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* AND PREVALENCE, MANIFESTATION AND OUTCOME OF DISEASE

A brief review of the current publications is referred to the analysis of the molecular and genetic characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* and the genetic factors of macroorganism that may influence the susceptibility/resistance to tuberculosis and thus may affect the prevalence, manifestation, and outcome of tuberculosis. The genotype Beijing plays a key role in the spread of *M. tuberculosis* with multidrug resistance. Fifty eight percent of *M. tuberculosis* isolates collected from different regions of Belarus belonged to the genotype Beijing and had an identical MIRU VNTR profile. The resistance to anti-tuberculosis drugs in *M. tuberculosis* is formed due to mutations in the following genes: to isoniazid – in genes *katG*, *inhA*, *acpM-kasA*), to rifampin – in *rpoB*, to streptomycin – in *rrs*, *rpsL*, to ethambutol – in *embB*, to ethionamide – in *inhA*, to pyrazinamide – in *pncA*, to fluoroquinolones – in *gyrA*.

Keywords: genome structure of *Mycobacterium tuberculosis*; main groups of genes and their functions; macroorganism genetic factors associated with resistance/susceptibility to TB infection; genotypes of *Mycobacterium tuberculosis*, their geographical distribution; molecular mechanisms of resistance; structure of mutations in genes associated with drug resistance.

Число заболевших туберкулезом (ТБ) в мире в 2014 г. составило 9,6 млн человек, из которых 1,5 млн, в том числе 400 тыс. ВИЧ-инфицированных, умерли. Несмотря на то что уровень заболеваемости ТБ ежегодно снижается, показатель смертности от этой болезни остается высоким. В настоящее время в среднем один из трех ВИЧ-инфицированных пациентов умирает от ТБ [1]. В ряде регионов мира, в том числе в Республике Беларусь, вызывают серьезное беспокойство высокие уровни туберкулеза с множественной и широкой лекарственной устойчивостью (МЛУ/ШЛУ-ТБ), которые растут из года в год [2–10]. В связи с высокой смертностью, в том числе ВИЧ-инфицированных, ростом заболеваемости МЛУ/ШЛУ-ТБ ВОЗ анонсировала глобальную стратегию борьбы с ТБ. Общая цель стратегии направлена на снижение к 2035 г. показателя смертности от ТБ на 95 % и заболеваемости ТБ на 90 % по сравнению с 2015 г. [1–14].

© Суркова Л. К., Слизень В. В., Залуцкая О. М., 2016

Достижения в области молекулярной биологии и биоинформатики создают предпосылки для лучшего понимания биологических особенностей *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ), патогенеза туберкулеза и особенностей взаимодействия микобактерий с иммунной системой, что в перспективе позволит кардинальным образом изменить ситуацию в плане контроля за распространением МБТ.

Известно, что популяции микобактерий обладают такими особенностями, как низкая скорость роста, переход в «дремлющее» состояние с возможностью реактивации в отдаленные сроки, внутриклеточное выживание, высокое содержание в клеточной стенке липидов и резистентность к противотуберкулезным лекарственным средствам (ПТЛС). Аннотирование генома МБТ позволило выявить локусы, определяющие уникальные особенности возбудителя туберкулеза. Геном МБТ включает гены, кодирующие белки, выполняющие защитные, антиокислительные функции, способствующие быстрой адаптации микобактерий туберкулеза к условиям обитания, кодирующие ферменты липидного и энергетического обмена.

Геном МБТ. В конце 1998 г. усилиями молекулярных биологов из Великобритании, США, Франции и Дании полностью расшифрован геном лабораторного штамма *M. tuberculosis* H_{37} RV [15]. Геном МБТ состоит из 4 411 529 пар оснований (п. о.), из которых 65,6 % приходится на гуанин и цитозин. Инициирующий кодон рамки считывания *oriC* гена *dnaA* является началом нумерации всех генетических локусов МБТ. Геном МБТ содержит около 4000 генов [15].

Гены РНК. В геноме МБТ функциональные молекулы РНК кодируют 55 генов: 1) 10 малых активирующих РНК (Sa РНК), отвечающих за деградацию белков, кодируемых аберрантными иРНК; 2) РНКазу Р; 3) 45 молекул тРНК. Гены, кодирующие 4,5S РНК, у МБТ отсутствуют. Оперон *rrn*, отвечающий за синтез РНК у МБТ, имеет необычное расположение: он находится на расстоянии 1500 т. п. о. от *oriC*, в то время как у большинства эубактерий один или несколько *rrn* операторов располагаются вблизи от *oriC*. Синтез тРНК метионина кодируется тремя генами, при этом ген *metV* располагается в конце места репликации ДНК МБТ, связан с интегразой и эксцизионазой и, возможно, является частью бактериофага или схожего мобильного генетического элемента [15].

Инсерционные последовательности и профаги. В геноме МБТ имеется множество повторяющихся вставок IS6110 (16 копий) и IS1081 (6 копий), других повторов с небольшим числом копий, а также двойные копии генов домашнего хозяйства [16]. Кроме того, в геноме МБТ H37Rv выявлено 32 различные IS последовательности (большая часть которых принадлежит к семейству 13E12), проявляющие некоторые черты мобильных генетических элементов. В геноме МБТ присутствуют также IS3 и IS256. Выявленные у МБТ IS1561 и IS1552 проявляют сходство с мобильными генетическими элементами других представителей порядка актиномицетов – *Nocardia* и *Rhodococcus* spp. Большинство IS элементов находятся в межгенных некодирующих участках или перед генами тРНК. Многие из этих IS элементов располагаются группами и, по всей видимости, предотвращают инактивацию следующих за ними структурных генов [15].

В геноме МБТ находятся два профага – *phiRv1* и *phiRv2*, которые имеют размеры 10 т. п. о. и схожи по строению с бактериофагами *Streptomyces* и сапрофитных микобактерий. Бактериофаг *phiRv1* интегрирован в повторяющуюся последовательность семейства 13E12 и находится в составе биотинового оперона. У вакцинного штамма *M. bovis* BCG профаг *phiRv1* подвергнут делеции. Большинство из присутствующих IS, за исключением IS1532, консервативны и не проявляют изменчивости [15].

Гены, кодирующие белки. У МБТ присутствует 3924 открытые рамки считывания. В качестве стартового кодона у них более часто используется триплет GTG (35 %), в то время как у *B. subtilis u E. coli* с этого триплета начинаются 9 и 14 % генов соответственно. Три гена (*dnaB*, *recA* и *Rv1461*) содержат последовательности, кодирующие интеины (белки-интроны). В геноме МБТ чаще, чем у других микроорганизмов, встречаются GC-содержащие кодоны, кодирующие Ala, Gly, Pro, Arg и Trp, и снижена доля кодонов с аденином, кодирующих аминокислоты Asn, Ile, Lys, Phe и Tyr. До 10 % генома кодирует белки с высоким содержанием Asn и Gly, принадлежащих к семействам PE и PPE. У PE белков на N-конце находится повторяющийся мотив Pro–Glu, у PPE белков – Pro–Pro–Glu, которые кодируются 99-м и 69-м локусами соответственно. Наиболее

распространенными у МБТ являются PE белки класса PGRS. В составе этих белков содержание глицина может достигать до 50 % за счет присутствия многочисленных тандемных повторов Gly–Gly–Ala или Gly–Gly–Asn. PPE белки из подгруппы MPTR содержат тандемные повторы Asn–X–Gly–X–Gly–Asn–X–Gly. Белки PE и PPE, по всей видимости, имеют антигенные свойства, локализуются в клеточной мембране или секретируются наружу. Их экспрессия варьируется в процессе инфекции. Домен PGRS может ингибировать процессинг антигенов [17, 18]. Гены PE и PPE белков проявляют изменчивость за счет делеций и дупликаций тандемных повторов за счет механизмов проскальзывания вилки репликации. Возникающие антигенные вариации PE и PPE белков позволяют им ускользать от действия иммунной системы. Фибронектин-связывающий протеин (ген *Rv1759*) – представитель PE белков класса PGRS – проявляет свойство ускользания от действия иммунной системы [15].

Гены, контролирующие метаболические пути. В геноме МБТ есть набор генов, обеспечивающих получение энергии путем окислительного фосфорилирования, а также гены, контролирующие компоненты анаэробной фосфорилирующей электрон-транспортной цепи: гены нитратредуктаз *narGHJI* и *nirBD*, фумарат-редуктазы (frdABCD) и редуктазы narX. Геном МБТ имеет два гена, которые кодируют гемоглобинподобные белки, играющие роль антиокислительных протекторов или «ловушек» избытка клеточного кислорода, что способствует быстрой адаптации туберкулезных микобактерий к резким изменениям окружающей среды. Способность поддерживать два типа энергетического метаболизма важна для существования как в условиях легочной ткани, так и внутри макрофагов и других клеток.

Регуляторные гены. В геноме МБТ присутствуют гены, кодирующие 13 σ-факторов, и 100 регуляторных протеинов. В отличие от *B. subtilis* и *E. coli*, которые имеют 30 копий различных двухкомпонентных систем регуляции, у МБТ присутствует только 11 сенсорных гистидиновых киназ и сенсорных регуляторов ответа. Этот относительный недостаток в путях сигнальной трансдукции компенсируется наличием семейства сериновых/треониновых протеинкиназ (СТПК), схожих с таковыми у эукариот. СТПК система, участвующая в сигнальной трансдукции, может контролировать такие важные процессы, как латенция, клеточное деление. Анализ генома позволяет предположить, что у МБТ функцию рецептора этой системы может выполнять LppR (ген Rv2403).

Метаболизм липидов. Уникальной особенностью МБТ является их клеточная стенка с высоким содержанием липидов, а также многочисленные пути липидного метаболизма, ферменты которого контролируются 250 генами, в то время как у *E. coli* – 50 генами [15].

Другие уникальные группы генов МБТ. В ходе расшифровки генома обнаружена уникальная область RDI (region of deference), отсутствующая в штамме BCG и нетуберкулезных микобактериях (за исключением трех их видов) и кодирующая секрецию специфических белков CFP-10 и ESAT-6. Описаны некоторые гены, которые могут отвечать за переход МБТ в покоящееся состояние и их реактивацию. *В* геноме МБТ присутствуют 5 генов, которые кодируют усиливающие реанимацию факторы – *rpfA-E* и необходимы для реактивации МБТ, располагающихся внутриклеточно [19, 20]. Показано, что регулятор транскрипции *devR* (или *dosR*) является важным фактором в метаболическом шифте, приводящем к формированию нереплицирующихся форм МБТ. В ответ на активацию этого фактора происходит индукция 53 генов, важных для формирования покоящихся форм МБТ [21]. Получены веские доказательства того, что на исход заболевания туберкулезом оказывает влияние не только состояние организма хозяина, но и генетические особенности МБТ [22]. Установлено, что индивидуальные отличия в структуре ДНК МБТ могут существенно влиять не только на риск инфицирования возбудителем туберкулеза, но и на вероятность перехода латентной формы заболевания в активную. В структуре генома обнаружено 8 генов, которые кодируют вызывающий колонизацию макрофагов фактор (macrophage-colonizing factor), способствующий быстрому проникновению МБТ в макрофаги хозяина и последующему выживанию внутри макрофага без потери патогенных свойств.

Многое остается неясным в филогенетических взаимоотношениях и эволюции МБТ. Их геном считается относительно стабильным. Однако гены репарации ДНК, рекомбинации и репликации (3R), гены комплексной селекции микобактерий, в отличие от генов домашнего хозяйства,

подвержены мутационным изменениям. Гены SOS-репарации, репарации нуклеотидных эксцизий (NER), разрыва соединений вилки репликации имеют более низкий уровень полиморфизма, но он сравним с таковым у генов домашнего хозяйства. МБТ поддерживают стабильность этих генов. Ослабленная точность воспроизведения генов 3R может приводить к появлению адаптивных вариантов МБТ, которые характеризуются большей жизнеспособностью. Мутации в генах системы 3R репарации могут рассматриваться как компенсация генетической изоляции МБТ, т. е. являться способом адаптации к изменениям микроокружения [17].

Генетические факторы макроорганизма. Распространение МБТ в макроорганизме контролируется геном ассоциированного с естественной резистентностью макрофагального белка (Nramp1), который кодирует белок, являющийся в цитоплазме макрофагов транспортером двухвалентных ионов железа, подавляющим внутриклеточный рост микобактерий. У лиц, восприимчивых к туберкулезной инфекции, встречается мутация по гену этого белка.

Восприимчивость человека к возбудителю туберкулеза определяется расположенным в 8-й хромосоме геном *ASAP1*, который кодирует белок дендритных клеток и играет важную роль в инициировании иммунного ответа на внедрение возбудителя [23]. У людей, предрасположенных к заболеванию туберкулезом, ген *ASAP1* экспрессируется в меньшем количестве и, соответственно, белка, влияющего на силу иммунного ответа, синтезируется меньше, чем у здоровых лиц. Из описанных двух аллелей гена *ASAP* лишь один обеспечивает протективный эффект против туберкулезной инфекции.

Наиболее важным рецептором дендритных клеток, отвечающих за антигенпрезентацию, является рецептор DC-SIGN (Dentritic Cell – specific ICAM-3 Grabbing Nonitegrin), известный как C*D209*. В 2005 г. двумя разными коллективами исследователей установлена связь между аллелями гена C*D209* и устойчивостью/восприимчивостью к таким инфекциям, как туберкулез, ВИЧ и лихорадка Денге. Результаты ряда исследований свидетельствуют о корреляции между устойчивостью к развитию заболевания, вызываемого генотипом МБТ «Пекин», и присутствием аллельного варианта гена *DC–SIGN* (*-336G*) у человека [24, 25].

Генетические особенности МБТ, влияющие на их вирулентность и эволюцию. Использование в эпидемиологических исследованиях методов генотипирования (например, RFLP IS6110 (Restriction Fragments Length Polymorphism)), сполиготипирования и MIRU-VNTR (Variable Number Tandem Repeats), базирующихся на анализе повторяющихся элементов, позволило выявить генетические различия между штаммами МБТ как в пределах одного региона, так и в разных странах [26–38].

Во многих регионах Российской Федерации и бывших республиках СССР среди клинических изолятов МБТ, выделенных от пациентов с туберкулезом, доминирует генотип Beijing [16, 32, 36, 39–41].

Показано, что эффективность химиотерапии (прекращение бактериовыделения и заживление деструктивных изменений) у пациентов, выделяющих МБТ Beijing, в 1,5 раза ниже, чем у пациентов с генотипом non Beijing [42]. В ряде публикаций показано, что на территории Европы генотип «Пекин» имеет эпидемическое значение только для стран бывших республик СССР [43, 44].

Историческим центром формирования генотипа Beijing является Китай, откуда он распространился на азиатские страны, страны бывшего СССР и Россию. Страны Юго-Восточной Азии остаются основным эпидемическим резервуаром этого генотипа, который составляет в этих странах в структуре всех штаммов возбудителя туберкулеза более 70 %. В странах бывшего СССР на долю этого генотипа приходится от 30 до 70 % [43, 44]. В остальных регионах мира он встречается на значительно более низком уровне. Выдвинута гипотеза о большой вирулентности микобактерий туберкулеза семейства Beijing, его способности ускользать от иммунной защиты макроорганизма, сформированной вакциной БЦЖ [45]. Генотип Beijing существенно отличается от других вариантов МБТ своей способностью к диссеминации и генерализации туберкулезного процесса [46]. Данный генотип характеризуется более выраженными клиническими проявлениями и достоверно чаще прогрессирующим течением по сравнению с МБТ индивидуальных генотипов [47]. Предполагается, что штаммы семейства Beijing распространяются быстрее, чем штаммы других генотипов [48–50].

Штаммы Beijing играют ключевую роль в распространении возбудителя с МЛУ [51]. Доказано, что МЛУ и полирезистентность МБТ выявляются среди микобактерии семейства Beijing в 2 раза чаще, чем среди МБТ других генетических вариантов (LAM, Haarlem, «Т») [52]. Среди изолятов МБТ, обладающих МЛУ, среди впервые выявленных и ранее леченных пациентов доминируют изоляты генотипа Beijing (56,9 и 75,4 % соответственно) [53].

Л. Н. Черноусова с соавт. [54] изучали биологические свойства штаммов МБТ кластера W в эксперименте *in vitro*, *ex vivo*, кластеризованных по ПДРФ IS6110. Авторы показали, что отличительной особенностью штаммов этого кластера является повышенная способность выживания в маркрофагах вне зависимости от инфицирующей дозы. Предположение о гипервирулентности МБТ кластера W не подтвердилось. Штаммы различались по вирулентности и определялись и как более, и как менее вирулентные по сравнению с микобактериями туберкулеза штамма $H_{37}RV$.

Молекулярно-эпидемиологические исследования показали высокую трансмиссивность штаммов W семейства Beijing по сравнению со штаммами других семейств, циркулирующих в России. На неблагополучных по туберкулезу территориях России распространенность W-штаммов доходит до 60 % [55].

Согласно нашим исследованиям методом MIRU VNTR, 69 штаммов МБТ с МЛУ в ассоциации с устойчивостью к фторхинолонам, полученных из разных регионов Республики Беларусь в 2013 г., демонстрировали достаточную генетическую однородность: 40 (58,0 ± 5,9 %) изолятов МБТ относились к генотипу Beijing и имели идентичный MIRU-VNTR профиль. К генотипу TUR принадлежали 11 (16,0 ± 4,4 %) изолятов *M. tuberculosis*, к Harlem – 16 (23,0 ± 5,1 %), у 2 (3,0 ± 2,1 %) изолятов *M. tuberculosis* генотипы не идентифицированы [56].

Доминирование штаммов *M. tuberculosis*, относящихся к семейству Beijing, на территории Республики Беларусь отмечалось в разные годы и другими исследователями [54, 55, 57] . Высокий удельный вес МБТ, принадлежащих к генотипу Beijing, может быть причиной стремительного роста МЛУ-ТБ в республике.

Длительная циркуляция генотипа Beijing приводит к сохранению высокой распространенности МЛУ-ТБ, что диктует необходимость усиления борьбы с ним для своевременного выявления источников и путей трансмиссии инфекции и проведения полноценного лечения.

МБТ по своей природе не чувствительны к ряду ПТЛС. Главная причина их устойчивости закодирована в структуре генома. МБТ продуцируют бета-лактамазы, аминогликозид-ацетил трансферазы, у них есть системы эффлюкса. В настоящее время имеется информация о генах, участвующих в формировании устойчивости к изониазиду (*katG*, *inhA*, *acpM-kasA*), рифампицину (*rpoB*), стрептомицину (*rrs*, *rpsL*), этамбутолу (*embB*), этионамиду (*inhA*), (пиразинамиду (*pncA*), антибиотикам группы фторхинолонов (*gyrA*) (см. таблицу).

Мутации в генах, с которыми связана лекарственная устойчивость МБТ

Препарат	Ген	Продукт гена	Частота, %
Рифампицин	*rpoB*	В-субъединица РНК-полимеразы	>95
Изониазид	*katG* *acpM* *kasA* *inhA*	Каталаза-пероксидаза Ацетилированный белок-носитель Синтетаза Иноилредуктаза	>70 10 5 15
Этионамид	*inhA*	Иноилредуктаза	>70
Пиразинамид	*pncA*	Пиразинамидаза	>90
Стрептомицин	*rpsL* *rrs*	(2-субъединица) рибосомальный протеин 5-субъединица $(S)_p$ РНК	>90 <10
Канамицин	*rrs*	6-субъединица $(S)_p$ РНК	>90
Этамбутол	*embB*	Арабинозилотрансфераза	90
Фторхинолоны	*gyrA*	А-субъединица ДНК гиразы	80

Известно, что в основе лекарственной резистентности лежат мутации в генах, кодирующих белок-мишень, либо в генах, контролирующих транспорт лекарственных препаратов и метаболизм лекарств. Устойчивость к рифампицину определяется мутацией в гене *rpoB*, а 95 % резистентных к рифампицину штаммов МБТ содержат точечные мутации, делеции или вставки в гене *rpoB*, кодирующие β-субъединицу РНК-полимеразы. Рифампицин резистентные штаммы МБТ

в 80–90 % случаев устойчивы также к изониазиду, поэтому рифампицин-резистентные штаммы МБТ считаются своеобразным индикатором МЛУ.

Развитие лекарственной устойчивости МБТ связано с селекцией (отбором) и преимущественным выживанием части микробной популяции в присутствии антибактериальных препаратов. Появление в популяциях МБТ мутантных форм с лекарственной устойчивостью – это приобретенная способность возбудителя туберкулеза сохранять жизнедеятельность при воздействии на него лекарственных средств. В каждой популяции имеется незначительное количество мутантных клеток (10^{-6}–10^{-9}), резистентных к тому или иному препарату. При проведении химиотерапии погибают чувствительные микробные клетки, а резистентные выживают и продолжают размножаться, происходит их селекция с последующим распространением и инфицированием уже лекарственно-устойчивым возбудителем.

При лечении лекарственно-устойчивого туберкулеза очень важно учитывать, что в организме могут сосуществовать как лекарственно-устойчивые, так и лекарственно-чувствительные штаммы. Эффективность лечения в значительной мере зависит от их соотношения, а кроме того, лекарственная устойчивость *in vitro* не всегда совпадает с тем, что происходит в организме.

Некоторые мутации, связанные с лекарственной устойчивостью, требуют повышения минимальной ингибирующей концентрации лекарств и могут преодолеваться более высокими терапевтическими дозами лекарственного препарата.

В современных условиях возбудитель туберкулеза представлен целым набором штаммов, устойчивых к разным противотуберкулезным лекарственным средствам. Поэтому важно не только своевременно обнаружить микобактерии туберкулеза, но и параллельно определить их резистентность в максимально короткие сроки, чтобы своевременно назначить адекватное лечение. Успехи в преодолении проблемы лекарственно-резистентного туберкулеза связаны с развитием молекулярно-генетической диагностики мутаций в генах, участвующих в формировании лекарственной устойчивости (проведение такой диагностики стало возможным в лабораторных условиях). Существуют некоторые географические различия в структуре мутаций, причем различия обнаружены как в частоте встречаемости мутаций в том или ином кодоне, так и в частоте встречаемости типа нуклеотидных замен в пределах одного кодона.

Изучение молекулярных механизмов устойчивости МБТ к рифампицину, изониазиду, фторхинолонам, включая определение частоты и локализации мутаций в генах *rpoB*, *katG* и *gyrA*, началось в Республике Беларусь в 2006 г. [58, 59]. Среди штаммов, циркулирующих на территории Беларуси, наиболее часто мутации в гене *rpo*B наблюдали в кодонах 526 и 531, а в гене *katG* – в кодоне 315 [58]. В изолятах МБТ, выделенных от пациентов в Республике Беларусь, мутации, приводящие к МЛУ МБТ чаще выявлялись в 526-м и 531-м кодонах гена *rpoB* и в 315-м кодоне гена *katG*, реже – в –15-м и –8-м кодонах гена *inhA* [59]. Изучение мутаций у 65 клинических изолятов *M. tuberculosis* в гене *gyrA*, ассоциированных с устойчивостью к фторхинолонам, показало, что у 53 (81,5 %) из них определялись мутации, в том числе у 15 (28,3 %) – в 90-м кодоне, у 4 (7,5%) – в 91-м и у 34 (64,1 %) – в 94-м кодоне [56].

Таким образом, очевидным остается факт, что прогресс в преодолении проблемы туберкулеза связан с дальнейшим изучением молекулярно-биологических свойств микобактерий туберкулеза, источников и путей трансмиссии разных генетических семейств, механизмов персистирования возбудителя и сложного взаимодействия МБТ и популяции людей на молекулярно-генетическом уровне. Дальнейшие исследования будут сфокусированы на аннотировании генома МБТ и расшифровке функций белков, а также путей регуляции их экспрессии, описании регулонов, оперонов, метаболических и сигнальных путей МБТ. Актуальными в изучении эволюции МБТ остаются характеристика синонимичных и несинонимичных мутаций МБТ, описание инсерций, инделий, полиморфизма больших фрагментов ДНК. Важны исследования в области секвенирования РНК, детального анализа требуют секретируемые МБТ протеины (ESX/секреторная система VII типа, секреторная система TAT, Sec секреция), а также PE/PPE протеины. Необходима оценка тех молекул МБТ, которые могут стать мишенью для разработки новых противотуберкулезных лекарственных средств. В этой роли могут выступать ферменты липидного метаболизма, что предполагает проведение дальнейших исследований [60].

Список использованных источников

1. Global tuberculosis report / WHO: World Health, 2015.

2. Drug-resistant tuberculosis: Time for visionary political leadership / I. Abubakar [et al.] // Lancet Infect. Dis. – 2013. – Vol. 13, N 6. – P. 529–539.

3. Механизмы развития лекарственной устойчивости у *Mycobacterium tuberculosis* / Y. Zhang [et al.] // Туберкулез и легочные заболевания. – 2011. – Т. 2, № 1. – С. 7–19.

4. Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью в Туркменистане: результаты общенационального исследования, 2012–2013 гг. / ВОЗ: Европ. регион. бюро, 2013. – С. 1–13.

5. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: epidemiology and control / A. Matteelli [et al.] // Expert Rev. Anti. Infect. Ther. – 2007. – Vol. 5, N 5. – P. 857–871.

6. Drug resistance profiles of Mycobacterium tuberculosis isolates: five years' experience and insight into treatment strategies for MDR-TB in Lima, Peru / R. Timperi [et al.] // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 2005. – Vol. 9, N 2. – P. 175–180.

7. Alarming levels of drug-resistant tuberculosis in Belarus: results of a survey in Minsk / A. Skrahina [et al.] // Eur. Respir. J. 2012. – Vol. 39, N 6. – P. 1425–1431.

8. Evolution and transmission of drug-resistant tuberculosis in a Russian population / N. Casali [et al.] // Nat. Genet. – 2014. – Vol. 46, N 3. – P. 279–286.

9. *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance, Abkhazia / M. Pardini [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2005. – Vol. 11, N 3. – P. 501–503.

10. Extensively drug-resistant tuberculosis: back to the future / G. B. Migliori [et al.] // Eur. Respir. J. – 2010. – Vol. 36, N 3. – P. 475–477.

11. Focus, E. WHO's new Stop TB Strategy / E. Focus // Options. – 2006. – 367 p.

12. Доклад о глобальной борьбе с туберкулезом, 2014 г. / ВОЗ. – Женева, 2014.

13. Global tuberculosis control: lessons learnt and future prospects / C. Lienhardt [et al.] // Nat. Rev. Microbiol. – 2012. – Vol. 10, N 6. – P. 407–416.

14. Guidelines for the programmatic management of multidrug-resistant tuberculosis / WHO, 2011.

15. Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence / S. T. Cole [et al.] // Nature. – 1998. – Vol. 393. – P. 537–544.

16. Умпелева, Т. В. Молекулярно-генетическая характеристика клинических изолятов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от больных туберкулезом в Уральском федеральном округе Российской Федерации: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Т. В. Умпелева. – Екатеринбург, 2014. – 20 с.

17. Phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains constructed from Polymorphisms in genes involved in DNA replication, recombination and repair / O. Mestre [et al.] // PLoS One. – 2011. – Vol. 6, N 1. – P. 1–7.

18. Evolution and diversity of clonal bacteria: The paradigm of *Mycobacterium tuberculosis* / T. Dos Vultos [et al.] // PLoS One. – 2008. – Vol. 3, N 2.

19. How dormant is *Mycobacterium tuberculosis* during latency? A study integrating genomics and molecular epidemiology / Z. Yang [et al.] // Infect. Genet. Evol. – 2011. – Vol. 11, N 5. – P. 1164–1167.

20. Mutants of *Mycobacterium tuberculosis* lacking three of the five rpf-like genes are defective for growth *in vivo* and for resuscitation *in vitro* / K. J. Downing [et al.] // Infect. immun. – 2005. – Vol. 73, N 5. – P. 3038–3043.

21. Murphy, D. J. Identification of gene targets against dormant phase *Mycobacterium tuberculosis* infections / D. J. Murphy, J. R. Brown // BMC Infect. Dis. – 2007. – Vol. 7. – P. 84.

22. Bacterial polymorphisms The nature and consequence of genetic variability within *Mycobacterium tuberculosis* Bacterial polymorphisms / M. J. Blaser [et al.] // J. Clin. Invest. – 2001. – Vol. 107, N 5. – P. 533–537.

23. Susceptibility to tuberculosis is associated with variants in the ASAP1 gene encoding a regulator of dendritic cell migration / J. Curtis [et al.] // Nat. Genet. – 2015. – Vol. 47, N 5. – P. 523–527.

24. Звонкова, С. Г. Изучение особенностей полиморфизма генов dc-sign –336a/g, mcp1 –2518a/g, infγ +874a/t и конституциональных типов у детей с туберкулезной инфекцией / С. Г. Звонкова, О. Б. Огарков, Е. Ю. Зоркальцева // Бюл. ВСЦН СО РАМН. – 2011. – Т. 2, № 78. – С. 198–200.

25. Анализ полиморфизма –336a/g гена dc-sign (cd209) в аутопсийном материале / В. В. Синьков [и др.] // Бюл. ВСЦН СО РАМН. – 2011. – Т. 2, № 78. – С. 220–222.

26. Генотипы штаммов *Mycobacterium tuberculosis* с широкой лекарственной устойчивостью и клинико-эпидемиологические особенности туберкулеза легких / Н. Р. Васильева [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2016. – Т. 6, № 2. – С. 179–183.

27. Genotyping of the *Mycobacterium tuberculosis* complex using MIRUs: Association with VNTR and spoligotyping for molecular epidemiology and evolutionary genetics / C. Sola [et al.] // Infect. Genet. Evol. – 2003. – Vol. 3, N 2. – P. 125–133.

28. Supply, P. Multilocus Variable Number Tandem Repeat Genotyping of Mycobacterium tuberculosis / P. Supply // Institut Pasteur de Lille. – 2005. – 73 p.

29. Automated high-throughput genotyping for study of global epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* based on mycobacterial interspersed repetitive units / P. Supply [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2001. – Vol. 39, N 10. – P. 3563–3571.

30. Guide to the Application of Genotyping to Tuberculosis Prevention and Control // National Tuberculosis Controllers Association, Centers for Disease Control and Prevention, and Advisory Group on Tuberculosis Genotpying. – 2004. – 80 p.

31. Molecular characterization of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from North Indian patients with extrapulmonary tuberculosis / M. M. Sankar [et al.] // Tuberculosis (Edinb). – 2013. – Vol. 93, N 1. – P. 75–83.

32. Mokrousov, I. Molecular structure of *Mycobacterium tuberculosis* population in Russia and its interaction with neighboring countries / I. Mokrousov // Int. J. Mycobacteriology. – 2015. – Vol. 4. – P. 56–57.

33. Spoligotype signatures in the *Mycobacterium tuberculosis* complex / E. M. Streicher [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2007. – Vol. 45, N 1. – P. 237–240.

34. Mokrousov, I. *Mycobacterium tuberculosis* Latin American-Mediterranean family and its sublineages in the light of robust evolutionary markers / I. Mokrousov, A. Vyazovaya, O. Narvskaya // J. Bacteriol. – 2014. – Vol. 196, N 10. – P. 1833–1841.

35. Мокроусов, И. В. Методологические подходы к генотипированию *Mycobacterium tuberculosis* для эволюционных исследований / И. В. Мокроусов // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т. 2, № 3. – С. 603–614.

36. Genotypes and characteristics of clustering and drug susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* isolates collected in heilongjiang province, China / J. Wang [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2011. – Vol. 49, N 4. – P. 1354–1362.

37. Galagan, J. E. Genomic insights into tuberculosis / J. E. Galagan // Nat. Rev. Genet. – 2014. – Vol. 15, N 5. – P. 307–320.

38. Mokrousov, I. Penitentiary population of *Mycobacterium tuberculosis* in Kyrgyzstan: Exceptionally high prevalence of the Beijing genotype and its Russia-specific subtype / I. Mokrousov, V. Valcheva, N. Sovhozova // Infect. Genet. Evol. – 2009. – Vol. 9, N 6. – P. 1400–1405.

39. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage favors the spread of multidrug-resistant tuberculosis in the Republic of Georgia / S. Niemann [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2010. – Vol. 48, N 10. – P. 3544–3550.

40. Efficient differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* strains of the W-Beijing family from Russia using highly polymorphic VNTR loci / O. V. Surikova [et al.] // Eur. J. Epidemiol. – 2005. – Vol. 20, N 11. – P. 963–974.

41. Molecular genetic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* strains spread in different patient groups in St. Petersburg, Russia / E. Chernyaeva [et al.] // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2012. – Vol. 31, N 8. – P. 1753–1757.

42. Исаева, Т. Х. Течение и эффективность лечения впервые выявленных больных туберкулезом легких в зависимости от генотипа *M. tuberculosis*: автореф. дис. … канд. мед. наук / Т. Х. Исаева. – М., 2012. – С. 25.

43. Савилов, Е. Д. Реконструкция истории распространения «пекинского» генотипа в России и на постсоветском пространстве методами молекулярной биологии / Е. Д. Савилов, В. В. Синьков, О. Б. Огарков // Бюл. ВСЦН СО РАМН. – 2011. – Т. 2, № 78. – С. 172–175.

44. Савилов, Е. Д. Эпидемиология туберкулеза на Евро-Азиатском континенте. Оценка глобального движения штаммов генотипа «Пекин» / Е. Д. Савилов, В. В. Синьков, О. Б. Огарков. – Иркутск: ИГМ АПО, 2013. – 121 с.

45. Туберкулез легких, вызванный *Mycobacterium tuberculosis* различных генотипов / Т. Ф. Оттен [и др.] // Проблемы туберкулеза. – 2003. – № 10. – С. 13–15.

46. A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different *Mycobacterium tuberculosis* strains / B. Lopez [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 2003. – Vol. 133. – P. 30–37.

47. Туберкулез сегодня: особенности возбудителя, клиника и лечение / Л. А. Скворцова [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезни легких. – 2005. – № 11. – С. 6–10.

48. Genomic Deletions Classify the Beijing / W Strains as a Distinct Genetic Lineage of *Mycobacterium tuberculosis* Genomic Deletions Classify the Beijing / A. G. Tsolaki [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2005. – Vol. 43, N 7. – P. 3185–3191.

49. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype induces differential cytokine production by peripheral blood mononuclear cells of healthy BCG vaccinated individuals / A. Rivera-Ordaz [et al.] // Immunol. Invest. – 2012. – Vol. 41, N 2. – P. 144–156.

50. Global dissemination of the *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family strains / P. J. Bifani [et al.] // Trends Microbiol. – 2002. – Vol. 10, N 1. – P. 45–52.

51. Баласанянц, Г. С. Изучение генетической принадлежности *Mycoabcterium tuberculosis* на отдельных территориях северо-запада России / Г. С. Баласанянц, Н. Ю. Исаева, А. Н. Гришко // Туберкулез и болезни легких: материалы IX съезда фтизиатров России. – 2011. – № 4. – С. 47.

52. Исаева, Т. Х. Течение и эффективность лечения впервые выявленных больных туберкулезом легких в зависимости от генотипа *M. tuberculosis*: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Т. Х. Исаева. – М., 2012. – 25 с.

53. Генотипирование уральских изолятов *Mycobacterium tuberculosis* / С. Н. Скорняков [и др.] // Биол. науки. – 2014. – С. 2–5.

54. Биологические свойства штаммов *M. tuberculosis* кластера W. / Л. Н. Черноусова [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезни легких. – 2008. – № 10. – С. 45–50.

55. Черноусова, Л. Н. Молекулярная эпидемиология туберкулеза в тюрьмах / Л. Н. Черноусова, П. С. Кривонос // Актуальные проблемы пенитенциарной медицины: материалы междунар. науч.-практ. конф. – Минск, 2001. – С. 48–50.

56. Слизень, В. В. Анализ результатов изучения генотипов *Mycobacterium tuberculosis* с лекарственной устойчивостью / В. В. Слизень, Л. К. Суркова // Мед. панорама. – 2015. – Т. 9, № 162. – С. 46–51.

57. Сполиготипирование лекарственно-устойчивых штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих на территории Беларуси / Н. В. Василенко [и др.] // Иммунология, аллергология, инфектология. – 2006. – № 4. – С. 70–74.

58. Molecular characterization of rpoB gene mutations in rifampicine-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from tuberculosis patients in Belarus / L. P. Titov [et al.] // Biotechnol. J. – 2006. – Vol. 1, N 12. – P. 1447–1452.

59. KatG mutations in isoniazid-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Belarusian patients / S. Zaker Bostanabad [et al.] // Tuberk. Toraks. – 2007. – Vol. 55, N 3. – P. 231–237.

60. Editorial TBCAP: tuberculosis annotation project / P. J. Brennan [et al.] // Tuberculosis. – 2013. – Vol. 93, N 1. – P. 1–5.

References

1. (2015) Global tuberculosis report. WHO: World Health organization, Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059_eng.pdf?ua=1 (accessed 12 October 2016).

2. Abubakar, I., Zignol, M., Falzon, D., Raviglione, M., Ditiu. L., Masham, S., Adetifa, I., Ford, N., Cox, H., Lawn, S. D., Marais, B. J., McHugh, T. D., Mwaba, P. and Bates, M. (2013) "Drug-resistant tuberculosis: Time for visionary political leadershi", *The Lancet Infectious Diseases*, vol. 13, no. 6, pp. 529-539.

3. Zhang, Y., Yew, W. W., Deun, A. Van, Martin A., Palomino, J. C., Caminero, J. A., Schaaf, H. S., London, L., Azzopardi, P., Bennett, C. M., Graham, S. M., Duke, T., Lalloo, U. G. and Anthony, R. M. (2011) "Mechanisms of drug resistance development in Mycobacterium tuberculosis", *International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*, vol. 2, no. 1, pp. 7-19.

4. (2015) Tuberkulez s mnozhestvennoi lekarstvennoi ustoichivost'yu v Turkmenistane: rezul'taty obshchenatsional'nogo issledovaniya, 2012–2013 gg. [Multidrug resistant tuberculosis in Turkmenistan: results of a national study, 2012–2013 years], European WHO Regional Office, Copenhagen, DK.

5. Matteelli, A., Migliori, G. B., Cirillo, D., Centis, R., Girard ,E. and Raviglion M. (2007) "Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Mycobacterium tuberculosis: epidemiology and control", *Expert review of anti-infective therapy*, vol. 5, no. 5, pp. 857-871.

6. Timperi, R., Han, L. L., Sloutsky, A., Becerra, M. C., Nardell, E. A., Salazar, J. J. and Smith-Fawzi, M. C. (2005) "Drug resistance profiles of Mycobacterium tuberculosis isolates: five years' experience and insight into treatment strategies for MDR-TB in Lima, Peru", *The international journal of tuberculosis and lung disease*, vol. 9, no. 2, pp. 175-180.

7. Skrahina, A., Hurevich, H., Zalutskaya, A., Sahalchyk, E., Astrauko, A., Van Gemert, W., Hoffner, S., Rusovich, V. and Zignol, M. (2012) "Alarming levels of drug-resistant tuberculosis in Belarus: Results of a survey in Minsk", *European Respiratory Journal*, vol. 39, no. 6, pp. 1425-1431.

8. Casali, N., Nikolayevskyy, V., Balabanova, Y., Harris, S. R., Ignatyeva, O., Kontsevaya, I., Corander, J., Bryant, J., Parkhill, J., Nejentsev, S., Horstmann, R. D., Brown, T. and Drobniewski, F. (2014) "Evolution and transmission of drug-resistant tuberculosis in a Russian population", *Nature genetics*, vol. 46, no. 3, pp. 279-286.

9. Pardini, M., Iona, E., Varaine, F., Karakozian, H., Arzumanian, H., Brunori, L., Orefici, G., Fattorini, L., Oggioni, M. R., Meacci, F., Trappetti, C., Checchi, F., Bonnet, M. and Andrew, P. W. (2005) "Mycobacterium tuberculosis drug resistance Abkhazia", *Emerging Infectious Diseases*, vol. 11, no. 3, pp. 501-503.

10. Migliori, G. B., Sotgiu, G., Lange, C. and Centis R. (2010) "Extensively drug-resistant tuberculosis: Back to the future", *European Respiratory Journal*, vol. 36, no. 3, pp. 475-477.

11. Raviglione, M. C. and Uplekar, M. W. (2006) "WHO's new Stop TB Strategy", *Lancet*, vol. 367, pp. 952-955.

12. (2014) "Global Tuberculosis report, 2014", WHO, Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/137094/1/9789241564809_eng.pdf, (accessed 12 October 2016)

13. Lienhardt, C., Glaziou, P., Uplekar, M., Lonnroth, K., Getahun, H. and Raviglione, M. (2012) "Global tuberculosis control: lessons learnt and future prospects", *Nature reviews Microbiology*, vol. 10, no. 6, pp. 407-416.

14. (2011) *Guidelines for the programmatic management of Multidrug-resistant Tuberculosis*, World Health Organization, WHO Press, Geneva, CH.

15. Cole, S. T., Brosch, R., Parkhill, J., Garnier, T., Churcher, C., Harris, D., Gordon, S. V., Eiglmeier, K., Gas, S., Barry, C. E., Tekaia, F., Badcock, K., Basham, D., Brown, D., Chillingworth, T., Connor, R., Davies. R., Devlin, K., Feltwell, T., Hamlin, S. G. N., Holroyd, S., Hornsby, T., Jagels, K., Krogh, A., McLean, J., Moule, S., Murphy, L., Oliver, K., Osborne, J., Quail, M. A., Rajandream, M.-A., Rogers, J., Rutter, S., Seeger, K., Skelton, J., Squares, R., Squares, S., Sulston, J. E., Taylor, K., Whitehead, S. and Barrell, B. G. (1998) "Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence", *Nature*, vol. 393, pp. 537-544.

16. Umpeleva, T. V. (2014) "Molecular and genetic characteristics of Mycobacterium tuberculosis clinical isolates from patients with tuberculosis in the Urals Federal District of the Russian Federation", Abstract of Ph.D. dissertation, Microbiology, Federal State Institution "Ural Research Institute Phthisiopulmonology", Ekaterinburg, RU.

17. Mestre, O., Luo, T., Dos Vultos, T., Kremer, K., Murray, A., Namouchi, A., Jackson, C., Rauzier, J., Bifani, P., Warren, R., Rasolofo, V., Mei, J. and Gao, Q. Gicquel, B. (2011) "Phylogeny of Mycobacterium tuberculosis Beijing strains constructed from Polymorphisms in genes involved in DNA replication, recombination and repair", *PLoS ONE*, vol. 6, no. 1, pp. 1-7.

18. Dos Vultos, T., Mestre, O., Rauzier, J., Golec, M., Rastogi, N., Rasolofo, V., Tonjum, T., Sola, C., Matic. I. and Gicquel, B. (2008) "Evolution and diversity of clonal bacteria: The paradigm of Mycobacterium tuberculosis", *PLoS ONE*, vol. 3, no. 2, p. e1538.

19. Yang, Z., Rosenthal, M., Rosenberg, N. A., Talarico, S., Zhang, L., Marrs, C., Thomsen, V. O., Lillebaek, T. and Andersen, A. B. (2011) "How dormant is Mycobacterium tuberculosis during latency? A study integrating genomics and molecular epidemiology", *Infection, Genetics and Evolution*, vol. 11, no. 5, pp. 1164-1167.

20. Downing, K. J., Mischenko, V. V, Shleeva, M. O., Young, D. I., Young, M., Kaprelyants, A. S., Apt, A. S. and Mizrahi, V. (2005) "Mutants of Mycobacterium tuberculosis Lacking Three of the Five rpf-Like Genes are Defective for Growth in vivo and for Resuscitation in vitro", *Infection and Immunity*, vol. 73, no. 5, pp. 3038-3043.

21. Murphy, D. J. and Brown, J. R. (2007) "Identification of gene targets against dormant phase Mycobacterium tuberculosis infections", *BMC infectious diseases*, vol. 7, p. 84.

22. Blaser, M. J., Musser, J. M., Bifani, P. J., Kreiswirth, B. N. and Small, P. M. (2001) "The nature and consequence of genetic variability within Mycobacterium tuberculosis", *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 107, no. 5, pp. 533-537.

23. Curtis, J., Luo, Y., Zenner, H. L., Cuchet-Lourenço, D., Wu C., Lo, K., Maes, M., Alisaac. A., Stebbings, E., Liu, J. Z., Kopanitsa, L., Ignatyeva, O., Balabanova, Y. and Nikolayevskyy, V. (2015) "Susceptibility to tuberculosis is associated with variants in the ASAP1 gene encoding a regulator of dendritic cell migration", *Nature genetics*, vol. 47, no. 5, pp. 523-527.

24. Zvonkova, S. G., Ogarkov, O. B. and Zorkal'tsev, E. Y. (2011) "Study of of DC-SIGN -336A / G, MCP1 -2518A / G, INFγ + 874A/T gene polymorphism and constitutional types of children with TB infection", *Byulleten' VSTsN SO RAMN* [VSTSN Bulletin SB RAMS], vol. 2, no. 78, pp. 198-200.

25. Sin'kov, V. V., Ogarkov, O. B., Zhdanova, S. N., Antipina, S. L. and Savilov, E. D. (2011) "Analysis of 336A/G gene DC-SIGN (CD209) polymorphism in the autopsy samples", *Byulleten' VSTsN SO RAMN* [VSTSN Bulletin SB RAMS], vol. 2, no. 78, pp. 220-222.

26. Vasil'eva, N. R., Vyazovaya, A. A., Zhuravleva, V. Y. Solov'eva, N. S., Mokrousov, I. V. and Narvskaya, O. V. (2016) "Genotypes of extended-drug resistant strains of Mycobacterium tuberculosis and clinical and epidemiological features of lung tuberculois", *Infektsiya i Immunitet* [Infectiona and Immunity], vol. 6, no. 2, pp. 179-183.

27. Sola, C., Filliol, I., Legrand, E., Lesjean, S., Locht, C., Supply, P. and Rastogi, N. (2003) "Genotyping of the Mycobacterium tuberculosis complex using MIRUs: Association with VNTR and spoligotyping for molecular epidemiology and evolutionary genetics", *Infection, Genetics and Evolution*, vol. 3, no. 2, pp. 125-133.

28. Supply, P. (2005) "Multilocus Variable Number Tandem Repeat Genotyping of Mycobacterium tuberculosis. Technical guide. Institut Pasteur de Lille", Available at: http://www.miru-vntrplus.org/MIRU/miruinfo.faces, (accessed 12 October 2016).

29. Supply, P., Lesjean, S., Savine, E., Kremer, K., Van Soolingen, D. and Locht, C. (2001) "Automated high-throughput genotyping for study of global epidemiology of Mycobacterium tuberculosis based on mycobacterial interspersed repetitive units", *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 39, no. 10, pp. 3563-3571.

30. (2004) "Guide to the Application of Genotyping to Tuberculosis Prevention and Control. Centers for Disease Control and Prevention, and Advisory Group on Tuberculosis Genotpying", Available at: http://www.cdc.gov/tb/programs/genotyping/images/tbgenotypingguide_june2004.pdf, (accessed 12 October 2016).

31. Sankar, M. M., Singh, J., Diana, S. C. A. and Singh, S. (2013) "Molecular characterization of Mycobacterium tuberculosis isolates from North Indian patients with extrapulmonary tuberculosis". *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, vol. 93, no. 1, pp. 75-83.

32. Mokrousov, I. V. (2015) "Molecular structure of Mycobacterium tuberculosis population in Russia and its interaction with neighboring countries", *International Journal of Mycobacteriology*, vol. 4, pp. 56-57.

33. Streicher, E. M., Victor, T. C., Van Der Spuy, G., Sola, C., Rastogi, N., Van Helden. P. D. and Warren, R. M. (2007) "Spoligotype signatures in the Mycobacterium tuberculosis complex", *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 45, no. 1, pp. 237-240.

34. Mokrousov, I. V., Vyazovaya, A. and Narvskaya, O. (2014) "Mycobacterium tuberculosis Latin American-Mediterranean family and its sublineages in the light of robust evolutionary markers", *Journal of Bacteriology*, vol. 196, no. 10, pp. 1833-1841.

35. Mokrousov, I. V. (2012) "Methodological approaches to mycobacterium tuberculosis to genotyping for evolutionary research", *Infektsiya i Immunitet* [Infection and Immunity], vol. 2, no. 3, pp. 603-614.

36. Wang, J., Liu, Y., Zhang, C. L., Ji, B. Y., Zhang, L. Z., Shao, Y. Z., Jiang, S. L., Suzuki, Y., Nakajima, C., Fan. C. L., Ma, Y. P., Tian, G. W., Hattori. T. and Ling, H. (2011) "Genotypes and characteristics of clustering and drug susceptibility of mycobacterium tuberculosis isolates collected in heilongjiang province, China", *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 49, no. 4, pp. 1354-1362.

37. Galagan J. E. (2014) "Genomic insights into tuberculosis", *Nature reviews. Genetics*, vol. 15, no. 5, pp. 307-320.

38. Mokrousov, I. V., Valcheva, V., Sovhozova, N., Aldashev, A., Rastogi. N. and Isakova, J. (2009) "Penitentiary population of Mycobacterium tuberculosis in Kyrgyzstan: Exceptionally high prevalence of the Beijing genotype and its Russia-specific subtype", *Infection, Genetics and Evolution*, vol. 9, no. 6, pp. 1400-1405.

39. Niemann, S., Diel, R., Khechinashvili, G., Gegia, M., Mdivani, N. and Tang, Y. W. (2010) "Mycobacterium tuberculosis Beijing lineage favors the spread of multidrug-resistant tuberculosis in the Republic of Georgia", *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 48, no. 10, pp. 3544-3550.

40. Surikova, O. V., Voitech, D. S., Kuzmicheva, G., Tatkov, S. I., Mokrousov, I. V., Narvskaya, O. V., Rot, M. A., Van Soolingen, D. and Filipenko, M. L. (2005) "Efficient differentiation of Mycobacterium tuberculosis strains of the W-Beijing family from Russia using highly polymorphic VNTR loci", *European Journal of Epidemiology*, vol. 20, no. 11, pp. 963-974.

41. Chernyaeva, E., Dobrynin, P., Pestova, N., Matveeva, N., Zhemkov, V. and Kozlov, A. (2012) "Molecular genetic analysis of Mycobacterium tuberculosis strains spread in different patient groups in St. Petersburg, Russia", *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, vol. 31, no. 8, pp. 1753-1757.

42. Isaeva, T. H. (2012) "Disease course and effectiveness of the treatment of patients newly diagnosed pulmonary tuberculosis depending on the genotype of M. tuberculosis", Abstract of Ph.D. dissertation, phthisiatry, Central Research Institute of Tuberculosis, Moscow, RU.

43. Savilov, E. D., Sinkov, V. V. and Ogarkov, O. B. (2011) "Reconstructing the history of genotype "Beijing" spread in the Russia and Post-Soviet countries by molecular biology techniques", Byulleten' VSTsN SO RAMN [VSTSN Bulletin SB RAMS], vol. 2, no. 78, pp. 172-175.

44. Savilov, E. D., Sinkov, V. V. and Ogarkov, O. B. (2012) *Epidemiologiya tuberkuleza na Evro-Aziatskom kontinente. Otsenka global'nogo dvizheniya shtammov genotipa "Pekin"* [Epidemiology of tuberculosis in Euro-Asian continent. Evaluation of the global spread of genotype "Beijing" strains], IGM APO, Irkutsk, RU.

45. Otten, T. F., Vasilyev, S. N., Manicheva, O. A. and Mokrousov, I. V. (2003) "Pulmonary Tuberculosis, caused by different genotypes of Mycobacterium tuberculosis", *Problemy tuberkuleza* [Tuberculosis Problems], vol. 10, pp. 13-15.

46. López, B., Aguilar, D., Orozco, H., Burger, M., Espitia. C., Ritacco, V., Barrera, L., Kremer, K., Hernandez-Pando R., Huygen, K. and Van Soolingen, D. (2003) "A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different Mycobacterium tuberculosis genotypes", *Clinical and Experimental Immunology*, vol. 133, no. 1, pp. 30-37.

47. Skvortsova, L. A., Pavlova, M. V., Sapozhnikova, N. V., Vishnevskii, B. K. and Narvskaya, O. V. (2005) "Tuberculosis today: characteristics of the pathogen, clinical course and treatment", *Problemy tuberkuleza i bolezni legkikh* [Problems of Tuberculosis and Lung Disease], no. 11, pp. 6-10.

48. Tsolaki, A. G., Gagneux, S., Pym, A. S., Salmoniere, Y. L. G., De Barry, N., Soolingen, D. Van, Small, P. M. and Kreiswirth, B. N. (2005) "Genomic Deletions Classify the Beijing/W Strains as a Distinct Genetic Lineage of Mycobacterium tuberculosis", *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 43, no. 7, pp. 3185-3191.

49. Rivera-Ordaz, A., Gonzaga-Bernachi, J., Serafín-López, J., Hernández-Pando, R., Van Soolingen, D., Estrada-Parra, S. Estrada-García I. and Chacón-Salinas, R. (2012) "Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype induces differential cytokine production by peripheral blood mononuclear cells of healthy BCG vaccinated individuals", *Immunological investigations*, vol. 41, no. 2, pp. 144-156.

50. Bifani, P. J., Mathema, B., Kurepina, N. E. and Kreiswirth, B. N. (2002) "Global dissemination of the Mycobacterium tuberculosis W-Beijing family strains", *Trends in Microbiology*, vol. 10, no. 1, pp. 45-52.

51. Balasanyants, G. S., Isaeva, N. Y. and Grishko, A. N. (2011) "Surveillance of the genetic affiliation of Mycobacterium tuberculosis in several areas of North-West Russia", *Tuberkulez i bolezni legkikh: materialy IX s'ezda ftiziatrov Rossii* [Tuberculosis and Lung Disease: Proceedings of the IX Congress of Russian TB doctors], vol. 88, no. 4, pp. 47-48.

52. Isaeva, T. H. (2012). "Features of a current the acute progressing of forms of a pulmonary tuberculosis depending on a genotype of M. tuberculosis", *Infektsionnye bolezni* [Infectious diseases], vol. 10, no. 3, pp. 98-99.

53. Skornyakov, S. N., Umpeleva, T. V, Vyazovaya, A. A., Kravchenko, M. A., Eremeeva, N. I. and Narvskaya, O. V. (2014) "Genotyping of isolates Mycobacterium tuberculosis from Ural", *Biologicheskie nauki* [Biological sciences], vol. 9, pp. 2485-2488.

54. Chernousova, L. N., Andreewskaya, S. N., Smirnova, T., Zemskova, Z. S. and Larionova, E. E. (2008) "Biological properties of cluster W M. tuberculosis strains", Problemy tuberkuleza i bolezni legkikh [Problems of Tuberculosis and Lung Disease], vol.10, pp. 45-50.

55. Chernousova, L. N., Kryvonos, P. S. and Andreewskaya, S. N. (2001) "Molecular epidemiology of tuberculosis in prisons", *Aktual'nye problemy penitentsiarnoi meditsiny: materialy mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii* [Problems of Penitentiary Medicine: Proceedings of the international. scientific. pract. conference], Minsk, BY, p. 48.

56. Slizen, V. V., Surkova, L. K. and Zalutskaya, O. M. (2015) "Analysis of the results of the study genotype Mycobacterium tuberculosis drug resistance", *Meditsinskaya panorama* [Medical panorama], vol. 9, no. 162, pp. 46-51.

57. Vasilenko, N. V., Vyazovaya, A. A., Mokrousov, I. V., Lemeschenko, E. V. and Smenov, V. N. (2006) "Spoligotyping of drug-resistant strains of Mycobacterium tuberculosis, circulating in Belarus", *Immunologiya, allergologiya, infektologiya* [Immunology, allergology, infectology], no. 4, pp. 70-74.

58. Titov, L. P., Zakerbostanabad, S., Slizen, V., Surkova, L., Taghikhani, M. and Bahrmand, A. (2006) "Molecular characterization of rpoB gene mutations in rifampicine-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates from tuberculosis patients in Belarus", *Biotechnology Journal*, vol. 1, no. 12, pp. 1447-1452.

59. Zaker, Bostanabad, S., Titov, L. P., Slizen, V. V., Taghikhani, M. and Bahrmand, A. (2007) "KatG mutations in isoniazid-resistant strains of Mycobacterium tuberculosis isolates from Belarusian patients", *Tuberkuloz ve Toraks*, vol. 55, no. 3, pp. 231-237.

60. Brennan, P. J., Brosch, R., Birren, B. and Sobral, B. (2013) "TBCAP. Tuberculosis annotation project", *Tuberculosis*, 2013, vol. 93, no. 1, pp. 1-5.

Информация об авторах

Суркова Лариса Константиновна – доктор мед. наук, профессор, зав. отделом лабораторной диагностики и лечения туберкулеза. Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220053, Минск, Республика Беларусь). E-mail: niipulm@tut.by

Слизень Вероника Вячеславовна – канд. мед. наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии. Белорусский государственный медицинский университет (220116, г. Минск, пр. Дзержинского, 83). E-mail: veronal@tut.by

Information about the authors

Surkova Larysa – D. Sc. (Med.), Professor, manager of department of laboratory diagnostics and treatment of tuberculosis. Republican Scientific-Practical Center of Pulmonology and Tuberculosis (157, Dolginovski trakt, 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: niipulm@tut.by

Slizen Veronika – Ph. D. (Med.), Associate Professor of Microbiology, Virology and Immunology. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: veronal@tut.by

Залуцкая Оксана Михайловна – врач-бактериолог Республиканской референс-лаборатории. Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220053, Минск, Республика Беларусь). E-mail: okasana@inbox.ru

Zalutskaya Oksana – bacteriologist of Republican referens-laboratory. Republican Scientific-Practical Center of Pulmonology and Tuberculosis (157, Dolginovski trakt, 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: veronal@tut.by

Для цитирования

Суркова, Л. К. Молекулярно-генетические особенности возбудителя туберкулеза: связь с распространенностью, течением и исходом заболевания / Л. К. Суркова, В. В. Слизень, О. М. Залуцкая // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – № 4. – С. 114–125.

For citation

Surkova L. K., Slizen V. V., Zalutskaya O. M. Correlation between molecular-genetic characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* and prevalence, manifestation and outcome of disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series*, 2016, no. 4, pp. 114–125.

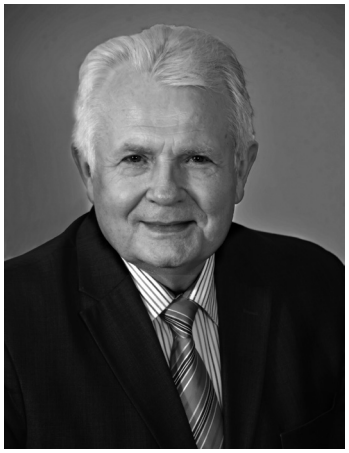
ISSN 1814-6023 (print)

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

SCIENTISTS OF BELARUS

ТИТОВ ЛЕОНИД ПЕТРОВИЧ

(К 70-летию со дня рождения)



3 октября 2016 г. исполнилось 70 лет со дня рождения видного белорусского ученого в области медицинской иммунологии и микробиологии, члена-корреспондента Национальной академии наук Беларуси, заслуженного деятеля науки Беларуси, лауреата Государственной премии Республики Беларусь в области науки и техники, иностранного члена Российской академии медицинских наук (ныне РАН), доктора медицинских наук, профессора Леонида Петровича Титова, заведующего лабораторией клинической и экспериментальной микробиологии ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии», профессора кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Белорусского государственного медицинского университета (БГМУ).

Л. П. Титов в 1975 г. с отличием закончил Минский государственный медицинский институт (Ленинский стипендиат) и поступил в аспирантуру при кафедре микробиологии. Под руководством заслуженного деятеля высшей школы, профессора А. П. Красильникова в 1978 г. он защитил кандидатскую диссертацию на тему «Изучение гуморальных факторов естественного иммунитета у больных первично хроническими инфекциями дыхательных путей». В 1986 г. Л. П. Титов избран доцентом, а в 1988 г. – заведующим кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии. В 1991 г. он защитил докторскую диссертацию на тему «Физиологические и патологические закономерности функционирования системы комплемента» в Киевском государственном медицинском институте им. А. А. Богомольца.

Научные исследования Л. П. Титова посвящены молекулярной биологии, геномике и генотипированию патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, их резистентности к противомикробным препаратам, клеточно-молекулярным механизмам естественного противоинфекционного и противоопухолевого иммунитета, влиянию ионизирующего излучения на иммунную систему, разработке методов и препаратов диагностики иммунопатологических состояний. Впервые в бывшем СССР им исследована роль системы комплемента в патогенезе хронических инфекций и вторичных иммунодефицитных состояний, аутоиммунных и аллергических заболеваний, разработаны и внедрены в практику методы оценки факторов естественного иммунитета и специфической иммунореактивности (анергии и гипоотвечаемости) организма на бактериальные антигены и митогены.

Актуальность проблемы влияния радиации на организм человека в нашей стране обусловило активное участие Л. П. Титова в изучении медицинских последствий аварии на Чернобыльской АЭС. В 1986 г. в рамках Государственной программы ликвидации медицинских последствий данной аварии им предложена оценка функции иммунной системы. При Центральной научно-исследовательской лаборатории МГМИ в 1986 г. Л. П. Титов организовал научную лабораторию «Иммунологии детского возраста» с целью изучения влияния малых доз радиации на иммунную систему детского населения. Совместно с коллегами уже в сентябре 1986 г. были получены и опубликованы первые научно обоснованные доказательства о связи дозы накопления щитовидной железой радиоактивного йода у детей и повреждением их иммунной системы. Установлены спектр и глубина молекулярно-клеточных нарушений иммунной системы в первые недели/

месяцы после аварии и в отдаленный период (1987–2006 гг.): состояние гиперчувствительности, аутоиммунитета, Т-клеточной анергии, повреждения ДНК лимфоцитов, которые в последующем были подтверждены рядом отечественных и зарубежных исследователей.

Л. П. Титов инициировал создание трехуровневой иммунологической службы в практическом здравоохранении. Более 15 лет он являлся главным иммунологом Министерства здравоохранения Республики Беларусь.

В марте 1995 г. Л. П. Титов был назначен директором Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии (ныне – РНПЦ эпидемиологии и микробиологии). В этот период деятельности в полной мере проявились его качества как ученого и организатора науки. Была осуществлена структурная реорганизация института, определены приоритетные направления его развития. В 1996 г. обоснована стратегия развития нового научного направления – медицинской биотехнологии на основе достижений молекулярной биологии, геномики и протеомики. С целью ее реализации разработана концепция Государственной научно-технической программы (ГНТП) «Инфекционные болезни и медицинские биотехнологии» (1996–2005 гг.), а затем ГНТП «Инфекционные заболевания и микробиологические биотехнологии» (2006–2010 гг.), ориентированные на создание и внедрение в практику отечественных инновационных биотехнологических решений новых поколений. Выдвижение на первое место научных проблем, имеющих локальное и глобальное значение, обеспечило подъем отечественной микробиологической науки, накопление новых фундаментальных знаний, усилило методическую вооруженность и практическую востребованность результатов здравоохранением страны. В итоге коллективом института за период с 1995 по 2009 г. разработано и внедрено в практику здравоохранения более 60 диагностических иммунобиологических технологий и препаратов, соответствующих лучшим зарубежным образцам, спектр которых постоянно расширяется.

В 2000 г. в структуре института Л. П. Титов организовал лабораторию клинической и экспериментальной микробиологии, затем совет по защите диссертаций по эпидемиологии и вирусологии, национальные центры по диагностике гриппа, полиомиелита, дифтерии, резистентности микроорганизмов к противомикробным препаратам, развил сотрудничество с центрами ВОЗ.

В последнее десятилетие научные исследования Л. П. Титова сконцентрированы на иммуномике дендритных клеток, Т-лимфоцитов, оценке экспрессии генов иммунной системы при воздействии биологических структур патогенных и пробиотических микроорганизмов, молекулярной эпидемиологии микобактерий туберкулеза, менингококков, пневмококков, листерий, хеликобактера и др.

Л. П. Титов награжден медалью «За доблестный труд» (1971), почетными грамотами Верховного Совета Республики Беларусь (1996), Национальной академии наук (2004, 2016), Министерства здравоохранения (2009, 2016), знаком «Отличник здравоохранения» (2008), удостоен благодарности президента Республики Беларусь Александра Григорьевича Лукашенко (2015).

В 2000 г. Л. П. Титов избран членом-корреспондентом Национальной академии наук Беларуси и в том же году удостоен почетного звания «Заслуженный деятель Республики Беларусь» за достижения в области медицинской иммунологии. В 2003 г. за цикл научных работ «Новые технологии профилактической и экологической медицины» в составе авторского коллектива (В. И. Вотяков, Н. А. Скепьян, Л. П. Титов, С. В. Федорович) он удостоен Государственной премии Республики Беларусь в области науки и техники.

Для Л. П. Титова характерна высокая общественная активность. Он является одним из инициаторов создания Республиканского научного общества иммунологов и аллергологов (в 1986–2000 гг. его председатель). С 1995 г. и по настоящее время Л. П. Титов возглавляет Белорусское научное медицинское общество эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. С 1986 по 2015 г. он являлся председателем совета по защите диссертаций при БГМУ, а с 2015 г. он председатель экспертного совета ВАК. С 2000 г. Л. П. Титов – представитель Федерации европейской микробиологических обществ (FEMS) в Беларуси.

Л. П. Титов успешно развивает международное научное сотрудничество с учеными ближнего (Россия, Украина, Литвы, Латвия, Казахстан, Кыргызстан) и дальнего (Болгария, Великобритания, Германия, Голландия, Дания, Индия, Иран, Канада, Польша, США, Франция, Швеция, Швейцария)

зарубежья. Совместно с зарубежными учеными он принимал активное участие в реализации ряда международных научных проектов в области молекулярной микробиологии и иммунологии. В 1994 г. в качестве эксперта участвовал в работе международной комиссии по изучению медицинских последствий крупнейшей в мире аварии на химическом заводе в г. Бхопал (Индия). В 2003 г. Л. П. Титов избран почетным профессором Американского колледжа аллергии, астмы и иммунологии (ACAAI), членом Европейской академии аллергологии и клинической иммунологии (EAACI), председателем координационного совета стран СНГ по мониторингу резистентности бактерий к антибиотикам, почетным профессором научного общества микробиологов Ирана. Им организовано более 30 международных научно-практических конференций и семинаров.

Результаты научных исследований Л. П. Титова регулярно представлялись на международных европейских и американских научных конференциях. Им прочитано более 150 научных докладов и лекций, опубликовано более 300 научных работ в зарубежных изданиях. Леонид Петрович неоднократно приглашался в качестве лектора, председателя секционных заседаний международных научных конференций, эксперта научных проектов. Он является редактором журнала “Health” (USA/China), членом редакционных советов ряда международных журналов, таких как “Central European Journal of Immunology” (Польша), “International Journal of Mycobacteriology” (Elsivier), “Medical microbiology” (Iran), “Genes, Microbes, Immunity” (Iran), “Education and Science” (Latvia), «Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии» (Россия), «Вопросы вирусологии» (Россия), «Экологическая медицина» (Украина), «Иммунофизиология, иммуногеномика» (Россия), «Иммунопатология, аллергология» (Россия), а также ряда отечественных научных журналов («Здравоохранение», «Доклады НАН Беларуси», «Весці НАН Беларусі. Серыя медыцынскіх навук», «Медицина» и др.).

Л. П. Титовым опубликовано 3 монографии, более 600 научных статей из общего числа более 1000 публикаций, 19 методических рекомендаций, получено 39 патентов и авторских свидетельств на изобретения. Под его редакцией издано 44 сборника научных трудов. Ученики созданной им научно-педагогической школы, которую представляют 10 докторов и 39 кандидатов наук, возглавляют кафедры, лаборатории, отделы и научно-практические центры.

Коллектив редколлегии журнала «Весці НАН Беларусі. Серыя медыцынскіх навук» поздравляет Леонида Петровича Титова с 70-летием и желает ему крепкого здоровья и дальнейших творческих успехов.

Редколлегия