

# ВЕСЦІ НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

---

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2017. № 2

---

# ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

---

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2017. № 2

---

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)*

Главный редактор

**Александр Васильевич Сукало** – Президиум Национальной академии наук Беларуси

Редакционная коллегия

- И. В. Залуцкий** – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси  
(заместитель главного редактора)
- Н. С. Сердюченко** – Отделение медицинских наук Национальной академии наук Беларуси  
(заместитель главного редактора)
- В. Г. Колосовская** (ведущий редактор журнала)
- О. В. Алейникова** – Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии  
и иммунологии
- Ф. И. Висмонт** – Белорусский государственный медицинский университет
- М. А. Герасименко** – Белорусская медицинская академия последипломного образования
- С. Л. Кабак** – Белорусский государственный медицинский университет
- Н. П. Митьковская** – Белорусский государственный медицинский университет

**А. Г. Мрочек** – Республиканский научно-практический центр «Кардиология»  
**Д. Л. Пиневиц** – Первый заместитель министра здравоохранения Республики Беларусь  
**О. О. Руммо** – 9-я городская клиническая больница г. Минска  
**А. Ф. Смянович** – Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии  
**А. Н. Стожаров** – Институт природопользования Национальной академии наук Беларуси  
**Л. П. Титов** – Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии  
**В. С. Улащик** – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси

Редакционный совет

**Э. Алекнавичус** – Национальный институт рака (*Литовская Республика*)  
**Марк М. Ван Гулле** – Университет Лёвен (*Бельгия*)  
**Д. Джурич** – Институт медицинской физиологии Ричарда Бьюриана Университета Белграда  
(*Республика Сербия*)  
**Т. П. Ключник** – Российская академия медицинских наук (*Российская Федерация*)  
**В. А. Кульчицкий** – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси  
**М.-А. Кусто** – Анжерский университет (*Французская Республика*)  
**А. И. Мартынов** – Медицинский центр Управления делами Президента Российской Федерации  
(*Российская Федерация*)  
**Л. И. Надольник** – Институт биохимии биологически активных соединений  
Национальной академии наук Беларуси  
**Р. Г. Оганов** – Российское кардиологическое общество (*Российская Федерация*)  
**Н. Д. Савенкова** – Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия  
(*Российская Федерация*)  
**М. В. Угрюмов** – Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова Российской академии наук  
(*Российская Федерация*)  
**И. А. Чешик** – Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси

*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. 2017. № 2.

*Выходит на русском, белорусском и английском языках*

---

Редактор *В. Г. Колосовская*  
Компьютерная верстка *С. Н. Костюк*

Подписано в печать 18.05.2017. Выход в свет 26.05.2017. Формат 60×84<sup>1/8</sup>. Бумага офсетная.  
Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 52 экз. Заказ 79.  
Цена номера: индивидуальная подписка – 10,34 руб., ведомственная подписка – 25,29 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, 2017

# PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

---

MEDICAL SERIES. 2017. no. 2

---

The Journal was founded in 2004

Published quarterly

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)*

Editor-in-Chief

**Aleksandr V. Sukalo** – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus

Editorial Board

- I. V. Zalutsky** – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus  
(Associate Editor-in-Chief)
- N. S. Serdyuchenko** – Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus  
(Associate Editor-in-Chief)
- V. G. Kolosovskaya** (Managing Editor)
- O. V. Aleinikova** – Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology
- M. A. Gerasimenko** – Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education
- S. L. Kabak** – Belarusian State Medical University
- N. P. Mitkovskaya** – Belarusian State Medical University
- A. G. Mrochek** – Republican Scientific and Practical Center “Cardiology”
- D. L. Pinevich** – First Deputy Minister of Health of the Republic of Belarus
- O. O. Rummo** – 9st City Clinical Hospital of Minsk
- A. F. Smeyanovich** – Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery
- A. N. Stozharov** – Institute for Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus
- L. P. Titov** – Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology
- V. S. Ulashchik** – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences
- F. I. Vismont** – Belarusian State Medical University

## Editorial Council

- Eduardas Aleknavicius** – National Cancer Institute (*Lithuania*)  
**I. A. Cheshik** – Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences (*Republic of Belarus*)  
**M.-A. Custaud** – University of Angers (*French Republic*)  
**Dragan Djuric** – Richard Buryan Medical Physiology Institute of the University of Belgrade  
(*Republic of Serbia*)  
**Mark M. Van Hulle** – University of Leuven (*Belgium*)  
**T. P. Klyushnik** – Russian Academy of Medical Sciences (*Russian Federation*)  
**V. A. Kulchitsky** – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences (*Republic of Belarus*)  
**A. I. Martynov** – Medical Center of the Administration of the President of the Russian Federation  
(*Russian Federation*)  
**L. I. Nadolnik** – Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy  
of Sciences of Belarus (*Republic of Belarus*)  
**R. G. Oganov** – Russian Cardiology Society (*Russian Federation*)  
**N. D. Savenkova** – Saint-Petersburg State Pediatric Medical Academy (*Russian Federation*)  
**M. V. Ugryumov** – Koltzov Developmental Biology of the Russian Academy of Sciences (*Russian Federation*)

### *Address of the Editorial Office:*

*1, 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, 2017, no. 2.

*Printed in Russian, Belarusian and English languages*

---

Editor *V. G. Kolosovskaya*  
Computer imposition *S. N. Kostsyuk*

Sent for press 18.05.2017. Output 26.05.2017. Format 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Offset paper.  
Digital press. Printed sheets 14,88. Publisher's signatures 16,4. Circulation 52 copies. Order 79.  
Number price: individual subscription – 10,34 byn., departmental subscription – 25,29 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 of August 2, 2013. License for press no. 02330/455 dated of December 30, 2013.  
Address: F. Skorina Str., 40, 220141, Minsk, Republic of Belarus.

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka",  
Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series, 2017

**ЗМЕСТ****КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА**

<b>Нечипуренко Н. И., Сидорович Р. Р., Пашковская И. Д., Змачинская О. Л., Черненко Н. И., Бончковская Т. Ю.</b> Клинико-функциональные и биохимические нарушения у пациентов с симптоматической эпилепсией при артериальных аневризмах сосудов головного мозга.....	7
<b>Висмонт Ф. И., Чепелев С. Н., Юшкевич П. Ф.</b> Противоишемическая и антиаритмическая эффективность дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с гиперхолестеролемией.....	16
<b>Лавриненко В. А., Марейко Ю. Е., Березовская Е. Ю., Быданов О. И., Белевцев М. В., Минаковская Н. В., Алейникова О. В.</b> Динамика химеризма как фактор прогноза развития рецидивов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при онкогематологических заболеваниях.....	26
<b>Быстренков А. В., Повелица Э. А., Сердюченко Н. С., Доста Н. И., Ниткин Д. М.</b> Клиническая оценка вариантов ветвления внутренней подвздошной артерии при проведении рентгенологических методов исследования у пациентов с мультифокальным атеросклерозом .....	41
<b>Завада Н. В., Волков О. Е., Рябцева С. Н., Швед И. А.</b> Морфологическая оценка эффективности эвертированного механического шва, укрытого амниотической мембраной, при разрыве тонкой кишки в условиях экспериментального перитонита .....	50
<b>Магиевская Н. В., Гончаров А. Е., Токунова И. О., Киреев Д. Е.</b> Изменение показателей клеточного иммунитета и экспрессии CCR5, CXCR4 у ВИЧ-инфицированных пациентов при формировании СПИДа в зависимости от тропизма вируса .....	61
<b>Калиновская Е. И., Кондрашова С. Б., Полулях О. Е., Басалай А. А., Лузина Е. Б.</b> Стресс-индуцированные изменения уровня адипокинов в сыворотке крови крыс с алиментарным ожирением .....	71
<b>Державец Л. А.</b> Факторы роста, ангиогенеза и межклеточной адгезии для оценки степени распространенности рака мочевого пузыря .....	78
<b>Повелица Э. А., Сердюченко Н. С., Доста Н. И., Ващенко Е. Н., Малков А. Б., Пархоменко О. В., Доманцевич В. А., Ниткин Д. М., Шестерня А. М.</b> Эректильная дисфункция у пациентов с автономной диабетической нейропатией .....	89
<b>Белякова А. С., Синюшин А. А., Воскресенская О. Г., Голубович В. П., Каменский А. А.</b> Влияние синтетического аналога фрагмента аргинин-вазопрессина на процесс обучения крыс .....	104
<b>Вилькицкая К. В., Полякова Н. И.</b> Риски развития осложнений после радикального оперативного лечения хронических заболеваний верхнечелюстной пазухи одонтогенной этиологии.....	117
<b>Хрусталева В. В., Хрусталева Т. А.</b> Скорость эволюции гена <i>APC</i> , кодирующего белок, препятствующий развитию колоректального рака.....	121

**ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ**

Памяти Юрия Евгеньевича Демидчика.....	127
----------------------------------------	-----

**CONTENTS****CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE**

<b>Nechipurenko N. I., Sidorovich R. R., Pashkouskaya I. D., Zmachynskaya O. L., Chernenko N. I., Bonchkovskaya T. Yu.</b> Clinico-functional and biochemical abnormalities in patients with symptomatic epilepsy on the background of aneurysms of cerebral arteries.....	7
<b>Vismont F. I., Chepelev S. N., Jushkevich P. F.</b> Antiischemic and antiarrhythmic efficiency of remote ischemic post-conditioning during ischemia-reperfusion in rats with hypercholesterolemia.....	16
<b>Lavrinenko V. A., Mareika Yu. E., Berezovskaya E. Yu., Bydanov O. I., Belevtsev M. V., Minakovskaya N. V., Aleynikova O. V.</b> Chimerism as a prognostic factor of relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in hematological malignancies.....	26
<b>Bystrenkov A. V., Povelitsa E. A., Serdjuchenko N. S., Dosta N. I., Nitkin D. M.</b> Clinical assessment of the internal iliac artery branching variants at X-ray examinations in patients with multifocal atherosclerosis.....	41
<b>Zavada N. V., Volkov O. E., Ryabtseva S. N., Shwed I. A.</b> Morphological evaluation of the efficiency of abdominal adhesions prevention with new intestinal rupture suture in peritonitis (experimental study).....	50
<b>Matsiyevskaya N. V., Hancharov A. Y., Tokunova I. O., Kireev D. E.</b> Changes in the cellular immunity and the expression of CCR5, CXCR4 in HIV-infected patients in the formation of immunosuppression depending on the viral tropism.....	61
<b>Kalinovskaya E. I., Kondrashova S. B., Poluliakh O. E., Basalai A. A., Luzina E. B.</b> Stress-induced changes in the level of adipokines in the blood serum of rats with alimentary obesity.....	71
<b>Derzhavets L. A.</b> Factors of growth, angiogenesis and intercellular adhesion for evaluation of bladder cancer spread.....	78
<b>Povelitsa E., Serdjuchenko N., Dosta N., Vaschenko E., Malkov A., Parhomenko O., Domantsevich V., Nitkin D., Shesternya A.</b> Erectile dysfunction in patients with autonomic diabetic neuropathy.....	89
<b>Belyakova A. S., Sinjushin A. A., Voskresenskaya O. G., Golubovich V. P., Kamensky A. A.</b> Influence of the synthetic analog of the arginine-vasopressin fragment on rat training.....	104
<b>Vilkitskaya K. V., Poliakova N. I.</b> Risk assessment of complications after radical operative therapy of chronic maxillary sinus diseases of the odontogenic origin.....	117
<b>Khrustalev V. V., Khrustaleva T. A.</b> Evolution rate of the <i>APC</i> gene coding a protein preventing the colorectal cancer development.....	121

**SCIENTISTS OF BELARUS**

In memory of Yuri Evgenievich Demidchik.....	127
----------------------------------------------	-----

ISSN 1814-6023 (print)

**КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА**  
**CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE**

УДК 616.853:616.133.33-007.64]-092

Поступила в редакцию 22.02.2017  
Received 22.02.2017

**Н. И. Нечипуренко, Р. Р. Сидорович, И. Д. Пашковская, О. Л. Змачинская,  
Н. И. Черненко, Т. Ю. Бончковская**

*Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Республика Беларусь*

**КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ  
У ПАЦИЕНТОВ С СИМПТОМАТИЧЕСКОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ  
ПРИ АРТЕРИАЛЬНЫХ АНЕВРИЗМАХ СОСУДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

Целью работы явилось изучение клинико-электроэнцефалографических и биохимических нарушений, показателей церебральной гемодинамики в магистральных артериях головы у пациентов с симптоматической эпилепсией при неразорвавшихся артериальных аневризмах сосудов головного мозга и без эпилептических приступов. Все пациенты были разделены на контрольную ( $n = 19$ ) и основную ( $n = 11$ ) группы, при этом у 100 % лиц основной и у 79 % пациентов контрольной группы выполнены различные виды нейрохирургического лечения аневризм. Результаты исследования показали, что у 22 % пациентов основной группы с эпилепсией при артериальных аневризмах имеются изменения биоэлектрической активности головного мозга при сочетании региональной медленноволновой и региональной эпилептиформной активности со стороны локализации аневризмы. У всех обследуемых когнитивные функции, определенные по шкале Mini Mental State Examination, сохранялись. При дуплексном сканировании магистральных артерий головы не обнаружено статистически значимого изменения пиковой систолической линейной скорости кровотока в средней мозговой и внутренней сонной артериях, значения индекса Линдегарда в аневризматически измененных и интактных сосудах. При биохимическом исследовании крови пациентов установлены нарушения углеводно-энергетического обмена, дисбаланс в про-, антиоксидантной системе крови и тенденция к повышению концентрации фактора некроза опухоли-альфа.

*Ключевые слова:* артериальная аневризма, симптоматическая эпилепсия, биоэлектрическая активность мозга, церебральная гемодинамика, перекисное окисление липидов.

**N. I. Nechipurenko, R. R. Sidorovich, I. D. Pashkouskaya, O. L. Zmachynskaya,  
N. I. Chernenko, T. Yu. Bonchkovskaya**

*Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Republic of Belarus*

**CLINICO-FUNCTIONAL AND BIOCHEMICAL ABNORMALITIES IN PATIENTS  
WITH SYMPTOMATIC EPILEPSY ON THE BACKGROUND OF ANEURYSMS OF CEREBRAL ARTERIES**

The aim of the work was to study clinico-electroencephalographic and biochemical disorders, cerebral hemodynamic parameters in the major arteries of the head in patients with symptomatic epilepsy on the background of unruptured cerebral aneurysms. The patients were divided into control ( $n = 19$ ) and main ( $n = 11$ ) groups. Various kinds of neurosurgical treatment of aneurysms were performed in 100 % of the patients of the main group and 79 % of the patients of the control group. Changes in the bioelectric activity of the brain were revealed in 22 % of patients with epilepsy on the background of unruptured cerebral aneurysms, who were the patients of the main group. The regional slow-wave activity and the regional epileptiform activity were identified on the side of the aneurysm location in these cases. Preservation of the cognitive function was demonstrated in all patients who were defined with the help of the Mini Mental State Examination scale. No statistically significant changes in a peak systolic blood flow velocity was revealed in the middle cerebral and internal carotid arteries and the Lindegaard index value in the aneurysmal modified and intact vessels when duplex scanning of the major arteries of the head. Disorders of carbohydrate-energy metabolism, imbalance in the pro-, antioxidant system of the blood and the trend to increase the concentration of tumor necrosis factor- $\alpha$  were found in the blood biochemical study of patients.

*Keywords:* cerebral aneurysms, symptomatic epilepsy, bioelectric activity of brain, cerebral hemodynamic, lipid peroxidation.

**Введение.** Артериальная аневризма (АА) – это локальное выпячивание стенки сосуда. По размерам аневризмы делят на милиарные (до 3 мм в диаметре), обычного размера (4–15 мм), большие (16–25 мм), гигантские (более 25 мм). АА могут быть одно- и многокамерными, одиночными, множественными. Около 15 % аневризм являются множественными и локализуются чаще всего в бассейнах средней мозговой артерии (СМА) и внутренней сонной артерии (ВСА) – в 35 и 34 % случаев соответственно. Что касается одиночных аневризм, то они чаще всего располагаются в области передней мозговой артерии, передней соединительной артерии (ПМА-ПСА) (46 %), ВСА (22 %), СМА (19 %) [1]. К основным причинам, вызывающим формирование АА, относятся морфологические изменения стенки артерий, гемодинамические особенности циркуляции крови в сосудах артериального круга большого мозга, механическое повреждение стенки сосуда, ассоциации с наследственными заболеваниями и атеросклеротическими изменениями [2, 3].

Аневризмы сосудов головного мозга, особенно расположенные супратенториально, в 14 % случаев осложняются эпилептическими приступами. Кровотечение из аневризмы повышает риск их развития в несколько раз [4]. Аневризмы, проявляющиеся эпилептиками до разрыва, чаще всего являются гигантскими (к ним относится около 5 % всех АА). Показано, что в случае неразорвавшихся аневризм сосудов головного мозга риск возникновения эпилепсии после нейрохирургического лечения достигает 9,2 % при клипировании АА и 6,2 % при эндоваскулярном лечении [5].

Существует несколько гипотез о развитии эпилептических приступов при АА. Во-первых, сдавление и инфаркт структур височной доли, которые имеют низкий порог судорожной готовности и являются эпилептогенными очагами при их повреждении. Во-вторых, минимальные аневризматические утечки крови могут способствовать образованию эпилептического фокуса в поврежденной зоне мозга [6]. В-третьих, кальцифицированные стенки аневризмы ведут себя подобно гамартомам и могут приводить к развитию эпилепсии [7]. Описаны случаи ее возникновения и при неразорвавшихся аневризмах малых размеров [8].

Патология кровоснабжения головного мозга является важнейшим фактором развития симптоматической эпилепсии. Проблема происхождения эпилепсии непосредственно связана с ее патогенезом. В настоящее время дебатруется вопрос о взаимодействии двух ведущих патологических факторов: наследственной предрасположенности и экзогенной вредности, взаимосвязь между которыми определяет развитие эпилепсии в каждом конкретном случае [9].

По данным Российского эпидемиологического исследования, у пациентов с эпилепсией чаще всего из сопутствующих заболеваний отмечаются хроническая ишемия головного мозга (18,1 % случаев) и сердечно-сосудистые нарушения (14,7 %) [10, 11]. При сосудистой этиологии эпилепсии наиболее часто обнаруживали артериальную гипертензию, ишемическую болезнь сердца, нарушения сердечного ритма, болезни периферических артерий и вен [11, 12].

Среди основных экзогенных вредностей отмечают инфекцию, травму и патологию кровоснабжения головного мозга. Существует мнение, что важнейшим механизмом патогенеза неонатального повреждения мозга при воздействии любой экзогенной вредности является нарушение мозгового кровотока, осуществляющего перфузию нейронального пула, а наиболее изученным патогенетическим звеном служит гипоксически-ишемическое повреждение [13]. При этом возникает сложный комплекс электрофизиологических, патохимических и морфологических нарушений, приводящих к возникновению эпилептического очага.

Цель исследования – изучить клинико-электроэнцефалографические и биохимические нарушения, показатели церебральной гемодинамики в магистральных артериях головы у пациентов с симптоматической эпилепсией при неразорвавшихся артериальных аневризмах сосудов головного мозга и без таковой.

**Материалы и методы исследования.** Обследовано 30 пациентов с неразорвавшимися АА сосудов головного мозга, госпитализированных в нейрохирургические отделения РНПЦ неврологии и нейрохирургии в 2016 г. с формированием основной и контрольной групп.

Критериями включения в исследование являлись: возраст от 18 до 70 лет, наличие симптоматической эпилепсии при АА, АА без симптоматической эпилепсии.

Критерии исключения из исследования: декомпенсированная патология органов сердечно-сосудистой и дыхательной систем, сахарный диабет с отсутствием эффекта от введения инсули-

на, тяжелая хроническая почечная и печеночная недостаточность, беременность, онкологические заболевания, инфекционные заболевания в острой и хронической стадиях, воспалительный процесс в организме, психические заболевания.

В основную группу вошли 11 пациентов (5 женщин и 6 мужчин) с симптоматической эпилепсией на фоне неразорвавшихся АА, средний возраст которых составил  $50,7 \pm 18,5$  года. Контрольную группу составили 19 пациентов (16 женщин и 3 мужчин) с неразорвавшимися АА без эпилепсии, средний возраст которых составил  $49,1 \pm 13,1$  года.

В неврологическом статусе оценивали состояние высшей нервной деятельности, функцию черепных нервов, двигательную, чувствительную, координаторную сферы, менингеальные знаки в первые-третьи сутки госпитализации в нейрохирургическое отделение. Для выявления возможных когнитивных нарушений использовали шкалу оценки психического статуса (Mini-mental State Examination, MMSE) – опросник из 30 пунктов. Для определения размеров, локализации аневризмы и внутримозговых кровоизлияний выполняли компьютерную томографическую (КТ) ангиографию на аппарате Discovery CT750HD. Регистрацию электроэнцефалограмм (ЭЭГ) осуществляли на многофункциональном компьютерном комплексе «Нейрон-Спектр-5» фирмы «Нейрософт» (Россия). Дуплексное сканирование экстракраниальных отделов магистральных артерий головы и транскраниальное дуплексное сканирование выполняли на ультразвуковом аппарате HD 11 XE (Philips) с использованием линейного датчика 3–9 МГц для исследования экстракраниальных артерий и фазированного секторного датчика 2–4 МГц для исследования интракраниальных артерий. Режимы сканирования: 2D (В-режим), цветовое доплеровское картирование, спектральный доплеровский режим.

Биохимические исследования включали определение концентрации лактата на анализаторе Biosen C\_line, концентрации пирувата – модифицированным методом Умбрайта [14]. Активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме крови измеряли по содержанию вторичных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-П) по методике, модифицированной В. А. Костюком [15]. Количественное определение общей антиоксидантной активности (ОАА) в сыворотке крови проводили спектрофотометрически с помощью набора реагентов «Оксистат» производства ИБОХ НАН Беларуси. Активность супероксиддисмутазы (СОД) в цельной крови изучали по реакции супероксидзависимого окисления кверцетина [16], активность каталазы в плазме крови – по методу, приведенному в работе [17]. Концентрацию ФНО-альфа в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа ELISA тест-наборами ЗАО «Вектор-Бест» на иммуноферментном анализаторе BioTek.

Нормальные биохимические показатели исследованы у 27 практически здоровых лиц (из них 18 (67 %) женщин, 9 (33 %) мужчин), средний возраст которых составил  $47,4 \pm 13,8$  года. При статистической обработке полученных данных применяли программу Statistica 6.0. Проверку числовых значений на нормальность распределения проводили с помощью критерия Шапиро–Уилка. При нормальном распределении данных вычисляли среднее арифметическое и стандартное отклонение ( $M \pm SD$ ), при распределении, отличном от нормального, – медиану (Me) и интервал между 25-м и 75-м перцентилями. Статистическую значимость между группами оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента либо критерия Манна–Уитни. Сравнение двух независимых групп по одному качественному признаку выполняли с помощью критерия  $\chi^2$ . Статистически значимыми являлись результаты при  $p < 0,05$ .

Лечение АА включает оперативные вмешательства: клипирование аневризмы сосудов головного мозга или эндоваскулярное лечение. Показания к оперативному лечению по поводу аневризм без разрыва определяются индивидуально для каждого пациента и коллегиально с учетом топографических особенностей, размера, расположения аневризмы, а также ожидаемой продолжительности жизни пациента с расчетом риска первичного разрыва аневризмы, в соответствии с рекомендациям исследования ISUIA (International Study of Unruptured Intracranial Aneurysms) [18].

**Результаты и их обсуждение.** В основной группе распределение аневризм по локализации было следующим: у 6 (54,5 %) человек обнаружена аневризма СМА, у 3 (27,3 %) – ВСА, у 2 (18,2 %) – ПМА-ПСА. Медиана размера аневризмы в данной группе пациентов по данным КТ-ангиографии составила 9,5 (6–39) мм.



В обоих случаях имели место по два вида нарушений. У 1 (11 %) пациента региональная медленно-волновая активность и региональная эпилептиформная активность (РЭА) выявлены на стороне локализации аневризмы. У 1 (11 %) пациента помимо РЭА выявлена пароксизмальная генерализованная медленноволновая активность в дельта-диапазоне.

У пациентов с АА основной и контрольной групп в первые-вторые сутки после госпитализации исследованы скоростные характеристики церебрального кровотока в сегменте М1 СМА и экстракраниальном отделе ВСА слева и справа, толщина комплекса интима-медиа (КИМ) в дистальном отделе общей сонной артерии (ОСА), а также определен индекс Линдегарда (ИЛ), который позволяет оценить степень церебрального ангиоспазма в СМА:

$$\text{ИЛ} = \frac{V_{ps} \text{ в СМА}}{V_{ps} \text{ в экстракраниальном отделе ВСА}}$$

Пиковая систолическая линейная скорость кровотока (с расчетом ИЛ) в СМА и ВСА на стороне с аневризматически измененным сосудом и интактной представлена в табл. 2. У 6 человек основной группы диагностирована мешотчатая аневризма СМА, у 3 – аневризма ВСА. У 10 пациентов контрольной группы диагностирована аневризма ВСА, у 3 – аневризма СМА, причем у одного из них – левой и правой СМА. В контрольной группе показатели  $V_{ps}$  на интактной стороне при АА СМА и ВСА были суммированы.

Таблица 2. Показатели транскраниального дуплексного сканирования средней мозговой артерии и внутренней сонной артерии у пациентов основной и контрольной групп,  $M \pm SD$

Table 2. Indices of transcranial duplex scanning of the middle cerebral and internal carotid arteries of the patients of the main and control groups,  $M \pm SD$

Группа	$V_{ps}$ , см/с				ИЛ	
	СМА		ВСА		Сторона аневризмы	Интактная сторона
	Сторона аневризмы	Интактная сторона	Сторона аневризмы	Интактная сторона		
Основная	$78,8 \pm 16,7$ ( $n = 6$ )	$83,9 \pm 16,5$ ( $n = 8$ )	$93,7 \pm 6,7$ ( $n = 3$ )	$97,5 \pm 21,6$ ( $n = 14$ )	$0,7 \pm 0,05$ ( $n = 3$ )	$0,9 \pm 0,2$ ( $n = 4$ )
Контрольная	$92,1 \pm 8,4$ ( $n = 4$ )	$108 \pm 27,4$ ( $n = 23$ )	$95,7 \pm 17,5$ ( $n = 10$ )	$91,2 \pm 12,4$ ( $n = 17$ )	$1,1 \pm 0,2$ ( $n = 10$ )	$1,1 \pm 0,16$ ( $n = 11$ )

Толщина КИМ в дистальном отделе ОСА у пациентов с АА основной группы составила  $0,83 \pm 0,2$  мм, у пациентов контрольной группы –  $0,84 \pm 0,2$  мм и соответствовала нормальным значениям (средние значения величины КИМ в дистальном участке ОСА у мужчин в норме составляют  $0,92 \pm 0,1$  мм, у женщин –  $0,6 \pm 0,1$  мм) [19]. При анализе  $V_{ps}$  в артериях с АА и интактных артериях головного мозга обследованных пациентов основной и контрольной групп не установлено статистически значимых различий между аневризматически измененными артериями и интактными сосудами. Клинически значимого ангиоспазма в СМА по значению ИЛ также не выявлено.

Таким образом, на момент госпитализации у пациентов основной и контрольной групп при дуплексном сканировании СМА и ВСА не показано статистически значимого изменения линейной скорости кровотока и значения ИЛ в аневризматически измененных и интактных сосудах.

При анализе метаболических сдвигов у пациентов с АА в первые-вторые сутки госпитализации в венозной крови исследованы концентрации метаболитов углеводного обмена – лактата и пирувата, показатели свободнорадикального окисления в крови, а также определен коэффициент лактат/пируват (Л/П) (табл. 3).

В обеих группах установлено статистически значимое повышение концентрации лактата ( $p = 0,002$  и  $p = 0,003$  соответственно), соотношения Л/П ( $p = 0,001$  и  $p = 0,0002$ ) по сравнению с данными здоровых лиц, что косвенно может указывать на наличие изменений гипоксического характера в церебральных структурах, развивающиеся при АА.

В основной группе пациентов, в отличие от контрольной группы, выявлено существенное нарушение равновесия в про-, антиоксидантной системе крови в виде повышения концентрации ТБК-П до  $3,0$  ( $2,7-4,2$ ) мкмоль/м ( $p = 0,0008$ ), снижения ОАА сыворотки до  $1,8$  ( $1,2-1,9$ ) ммоль/л ( $p = 0,039$ ),

Таблица 3. Метаболиты углеводного обмена, показатели про-, антиоксидантной системы в крови у пациентов основной и контрольной групп, Ме (25–75 процентиля)

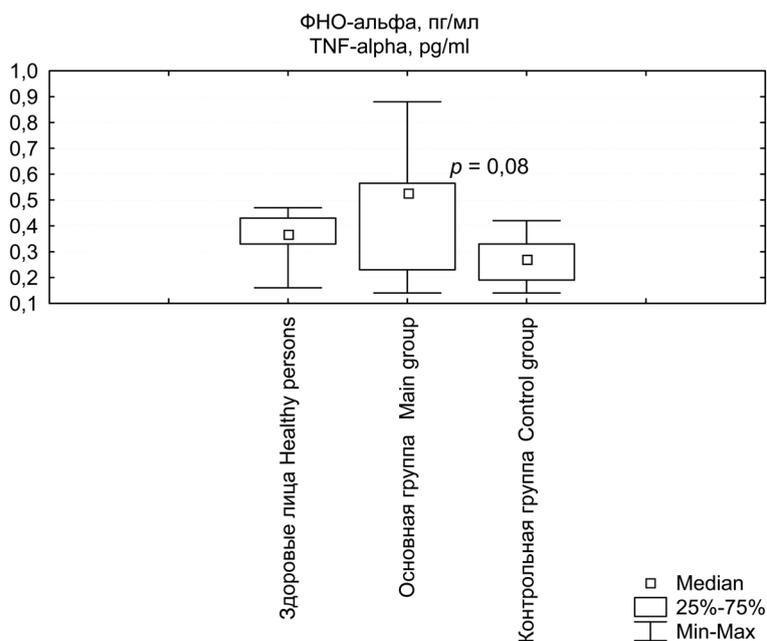
Table 3. Carbohydrate metabolism, indices of the pro-, antioxidant system of the blood of the patients of the main and control groups, Me (25–75 centiles)

Показатель	Здоровые лица (n = 27)	Основная группа (n = 11)	Контрольная группа (n = 19)	p
	1	2	3	
Лактат, ммоль/л	1,03 (0,84–1,35)	2,57 (1,25–2,8)	1,5 (1,19–2,17)	$p_{1-2} = 0,002$ $p_{1-3} = 0,003$
Пируват, ммоль/л	0,11 (0,09–0,17)	0,1 (0,09–0,14)	0,1 (0,07–0,11)	$p_{1-3} = 0,002$
Лактат/пируват	9,6 (6,7–14,0)	19,2 (13,7–23,0)	18,5 (16,0–24,7)	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{1-3} = 0,0002$
ТБК-П, мкмоль/л	1,8 (1,6–2,7)	3,0 (2,7–4,2)	2,1 (1,7–2,7)	$p_{1-2} = 0,0008$ $p_{2-3} = 0,008$
СОД, Е/мл	99,6 (85,8–117,6)	90,2 (56,5–121,3)	83,3 (73,0–106,4)	$p_{1-3} = 0,013$
Каталаза, усл. ед/с·мл	18,0 (13,2–22,2)	34,5 (21,0–67,8)	23,4 (10,8–54,6)	$p_{1-2} = 0,039$
ОАА, ммоль/л	2,38 (1,9–3,37)	1,8 (1,2–1,9)	2,26 (2,0–2,4)	$p_{1-2} = 0,039$ $p_{2-3} = 0,04$

тенденции к снижению активности СОД до 90,2 (56,5–121,3) Е/мл на фоне возрастания активности каталазы до 34,5 (21,0–67,8) усл. ед/с·мл ( $p = 0,039$ ) по сравнению с нормой. При сравнительном анализе данных основной и контрольной групп между ними выявлено достоверное различие в концентрации ТБК-П ( $p = 0,008$ ) и ОАА сыворотки крови ( $p = 0,04$ ), что свидетельствует об активизации процессов ПОЛ и недостаточности эндогенной антиоксидантной системы, обусловленными скорее всего развитием эпилептических приступов у пациентов с АА.

Для оценки признаков асептического воспаления при АА сосудов головного мозга определяли концентрацию ФНО-альфа у обследованных пациентов. Данные здоровых лиц, а также пациентов основной и контрольной групп представлены на рисунке.

Как видно из рисунка, в обеих группах пациентов с АА не наблюдалось статистически значимого отличия в концентрации ФНО-альфа в сравнении с данными здоровых лиц, у которых медиана равнялась 0,37 (0,33–0,43) пг/мл. В то же время отмечалась тенденция ( $p = 0,08$ ) к повы-



Концентрация ФНО-альфа у пациентов с АА и у здоровых лиц.  $p$  – достоверность различий между основной и контрольной группами

Concentration of tumor necrosis factor-alpha of patients with cerebral aneurysms and healthy persons.  $p$  is the significance of differences between the main and control groups

шению содержания изученного цитокина в основной группе относительно контрольной, которое составило 0,53 (0,23–0,57) пг/мл против 0,27 (0,19–0,33) пг/мл.

Таким образом, в результате проведенного исследования выявлена тенденция к повышению концентрации ФНО-альфа в сыворотке крови пациентов с АА и симптоматической эпилепсией основной группы в отличие от контрольной. Неконтролируемое возбуждение двигательной коры головного мозга в результате эпилептических приступов у пациентов с АА, вероятно, сопровождается повышением продукции ФНО-альфа и приводит к накоплению его в крови, что в дальнейшем может оказывать патологическое действие как на ЦНС, так и на сосудистую стенку. В некоторых исследованиях установлено, что увеличение продукции провоспалительных цитокинов, связанное с окислительным повреждением клеточных мембран, играет ключевую роль в патогенезе эпилепсии [20].

В соответствии с классификацией IЛАЕ 2011–2013 гг. и пересмотром основных терминов и этиологических факторов, обуславливающих различные формы эпилептических приступов, симптоматическая эпилепсия может быть следствием структурных или метаболических нарушений головного мозга, аутоиммунно-опосредованного воспаления структур ЦНС или воздействия различных инфекционных агентов [21]. Результаты выполненных исследований свидетельствуют о многофакторности патогенетической структуры симптоматической эпилепсии, развивающейся у пациентов с АА, включающей углеводно-энергетические и свободнорадикальные нарушения, подобные таковым при гипоксии головного мозга.

**Заключение.** В основной группе пациентов с эпилепсией на фоне неразорвавшихся АА медиана аневризмы составила 9,5 (6–39) мм. Время возникновения эпилептических приступов до выявления аневризм варьировалось от 3 сут до 15 лет. В 4 случаях это были простые парциальные приступы, временами со вторичной генерализацией. В 7 случаях приступы носили генерализованный тонико-клонический характер. Неврологический статус у 10 (91 %) пациентов до операции был без очаговой симптоматики. В контрольной группе пациентов с неразорвавшимися АА медиана аневризмы составила 5,5 (3–32) мм. Неврологический статус у 18 пациентов до операции был без очаговой симптоматики. У пациентов всех групп когнитивные функции, оцененные по шкале MMSE, находились в пределах нормальных значений.

При визуальном анализе межприступной ЭЭГ у пациентов основной и контрольной групп изменения биоэлектрической активности головного мозга установлены у 22 % лиц с эпилепсией на фоне неразорвавшейся АА. Выявлено совпадение региональной медленноволновой и региональной эпилептиформной активности со стороной локализации аневризмы.

При дуплексном сканировании брахиоцефальных и магистральных артерий головы у пациентов основной и контрольной групп не выявлено статистически значимого изменения пиковой систолической линейной скорости кровотока в СМА и ВСА и значения ИЛ в аневризматически измененных и интактных сосудах.

При биохимическом исследовании пациентов с неразорвавшимися АА в обеих группах установлены метаболические нарушения, проявляющиеся в повышении концентрации лактата и соотношения Л/П, которые указывают на роль гипоксического фактора в развитии АА сосудов головного мозга. У пациентов с АА и эпилепсией (основная группа) выявлен дисбаланс в про-, антиоксидантной системе крови с интенсификацией процессов ПОЛ, что подтверждает участие оксидантного стресса в развитии эпилептических приступов у пациентов с АА.

#### Список использованных источников

1. Гузева, В. И. Эпилепсия и неэпилептические пароксизмальные состояния у детей / В. И. Гузева. – М.: Мед. информ. агентство, 2007. – 568 с.
2. Nixon, A. M. The critical role of hemodynamics in the development of cerebral vascular disease / A. M. Nixon, M. Gunel, B. E. Sumpio // J. Neurosurg. – 2010. – Vol. 112, N 6. – P. 1240–1253.
3. Sforza, D. M. Hemodynamics of cerebral aneurysms / D. M. Sforza, C. M. Putman, J. R. Cebra // Annu. Fluid Mech. – 2009. – Vol. 41, N 1. – P. 91–107.
4. Литовченко, Т. А. Эпилепсия и эпилептические приступы после нейрохирургических операций / Т. А. Литовченко, В. А. Флорикян // Укр. вісн. психоневрології. – 2014. – Т. 22, вип. 3. – С. 139–145.
5. Incidence of ventricular shunt placement for hydrocephalus with clipping versus coiling for ruptured and unruptured cerebral aneurysms in the Nationwide Inpatient Sample database: 2002 to 2007 / B. L. Hoh [et al.] // World Neurosurg. – 2011. – Vol. 76, N 6. – P. 548–554.

6. Sena, J. C. Unruptured intracranial aneurysm presenting with epileptic seizure / J. C. Sena, Y. Reynier, B. Alliez // *Arq. Neuropsiquiatr.* – 2003. – Vol. 61, N 3-A. – P. 663–667.
7. Unusual association of intractable temporal lobe seizures and intracranial aneurysms in an adolescent: is it a coincidence? / S. S. Baeesa [et al.] // *Pediatr. Neurosurg.* – 1998. – Vol. 28, N 4. – P. 198–203.
8. Kamali, A. W. Aneurysms and epilepsy: an increasingly recognized cause / A. W. Kamali, O. C. Cockerell, P. Butlar // *Seizure.* – 2004. – N 13. – P. 40–44.
9. Гуляев, С. А. Эпилепсия и сосудистая патология головного мозга. – Владивосток: Изд-во Дальневосточ. ун-та, 2001. – 224 с.
10. Эпидемиология эпилепсии в России / А. Б. Гехт [и др.] // *Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова.* – 2006. – № 1. – С. 4–9.
11. Эпидемиология сосудистой эпилепсии в РФ / Е. И. Гусев [и др.] // *Цереброваскулярная патология и инсульт: материалы II Рос. междунар. конгресса, 17–20 сент. 2007 г., г. Санкт-Петербург.* – СПб., 2007. – С. 175.
12. Ryvlin, P. Sudden unexpected death in epilepsy: from mechanisms to prevention / P. Ryvlin, A. Montavont, P. Kahane // *Curr. Opin. Neurol.* – 2006. – Vol. 19, N 2. – P. 194–199.
13. Volpe, V. V. *Neurology of the Newborn* / V. V. Volpe. – 3rd ed. – Philadelphia: W. B. Saunders, 1995. – 930 p.
14. Камышников, В. С. *Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике* / В. С. Камышников. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 920 с.
15. Костюк, В. А. Определение продуктов перекисного окисления липидов с помощью тиобарбитуровой кислоты в анаэробных условиях / В. А. Костюк, А. И. Потапович // *Вопр. мед. химии.* – 1987. – № 3. – С. 115–118.
16. Костюк, В. А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Ж. В. Ковалева // *Вопр. мед. химии.* – 1990. – Т. 36, № 2. – С. 88–91.
17. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк [и др.] // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–19.
18. Unruptured intracranial aneurysms – risk of rupture and risks of surgical intervention. International study of unruptured intracranial aneurysms investigators // *New Engl. J. of Med.* – 1998. – Vol. 339, N 24. – P. 1725–1733.
19. Ультразвуковая диагностика патологии артерий головы и шеи / В. П. Куликов [и др.] // *Ультразвуковая диагностика сосудистых заболеваний* / под ред. В. П. Куликова. – М., 2007. – С. 122–338.
20. Increased interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein levels in pediatric epilepsy patients with frequent, refractory generalized motor seizures / N. Ishikawa [et al.] // *Seizure.* – 2015. – Vol. 25. – P. 136–140.
21. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE commission on classification and terminology, 2005–2009 / A. T. Berg [et al.] // *Epilepsia.* – 2010. – Vol. 51. – P. 676–685.

## References

1. Guzeva V. I. *Epilepsy and non-epileptic paroxysmal states in children.* Moscow, Med. inform. agentstvo, 2007, 568 p. (in Russian).
2. Nixon A. M., Gunel M., Sumpio B. E. The critical role of hemodynamics in the development of cerebral vascular disease. *Journal Neurosurgery*, 2010, vol. 112, no. 6, pp. 1240–1253.
3. Sforza D. M., Putman C. M., Cebra J. R. Hemodynamics of cerebral aneurysms. *Annual Fluid Mechanick*, 2009, vol. 41, no. 1, pp. 91–107.
4. Litovchenko T. A., Florikjan V. A. Epilepsy and epileptic seizures after neurosurgical operations. *Ukrainskij vestnik psihonevrologii* [Ukrainian Gazette psychoneurology], 2014, vol. 22, no. 3, pp. 139–145. (in Russian).
5. Hoh B. L., Kleinhenz D. T., Chi Y. Y., Mocco J., Barker F. G. 2nd. Incidence of ventricular shunt placement for hydrocephalus with clipping versus coiling for ruptured and unruptured cerebral aneurysms in the Nationwide Inpatient Sample database: 2002 to 2007. *World Neurosurgery*, 2011, vol. 76, no. 6, pp. 548–554.
6. Sena J. C., Reynier Y., Alliez B. Unruptured intracranial aneurysm presenting with epileptic seizure. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, 2003, vol. 61, no. 3-A, pp. 663–667.
7. Baeesa S. S., Dang T., Keene D. L., Ventureyra E. C. G. Unusual association of intractable temporal lobe seizures and intracranial aneurysms in an adolescent: is it a coincidence? *Pediatric Neurosurgery*, 1998, vol. 28, no. 4, pp. 198–203.
8. Kamali A. W., Cockerell O. C., Butlar P. Aneurysms and epilepsy: an increasingly recognized cause. *Seizure*, 2004, vol. 13, no. 1, pp. 40–44. doi:10.1016/S1059–1311(03)00075-X.
9. Guljaev S. A. *Epilepsy and cerebrovascular pathology.* Vladivostok, Izdatelstvo Dal'nevostochnogo universiteta, 2001. 224 p. (in Russian).
10. Geht A. B., Mil'chakova L. E., Churilin Ju. Ju., Bojko A. N. Epidemiology of epilepsy in Russia. *Zhurnal nevrologii i psihiatrii im. S. S. Korsakova* [S. S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry], 2006, no. 1, pp. 4–9. (in Russian).
11. Gusev E. I., Geht A. B., Mil'chakova L. E., Churilin Ju. Ju. Epidemiology of vascular epilepsy in Russia. *II Rossijskij Mezhdunarodnyj Kongress "Cerebrovaskuljarnaja patologija i insul't"* [II Russian International Congress "Cerebrovascular pathology and stroke"]. Sankt Peterburg, 2007, p. 175. (in Russian).
12. Ryvlin P., Montavont A., Kahane P. Sudden unexpected death in epilepsy: from mechanisms to prevention. *Current Opinion Neurology*, 2006, vol. 19, no. 2. Pp. 194–199.
13. Volpe V. V. *Neurology of the newborn*, 3rd ed. Philadelphia, W. B. Saunders, 1995. 930 p.
14. Kamyshnikov V. S. *Handbook of clinical and biochemical studies and laboratory diagnosis.* Moscow, MEDpress-inform, 2004. 920 p. (in Russian).

15. Kostyuk V. A., Potapovich A. I. Determination of lipid peroxidation products using thiobarbituric acid in anaerobic conditions. *Voprosy medicinskoj himii* [Problems of Medical Chemistry], 1987, no. 3, pp. 115–118. (in Russian).
16. Kostyuk V. A., Potapovich A. I., Kovaleva Zh. V. A simple and sensitive method for determining the activity of superoxide dismutase, based on the reaction of oxidation of quercetin. *Voprosy medicinskoj himii* [Problems of Medical Chemistry], 1990, vol. 36, no. 2, pp. 88–91. (in Russian).
17. Koroljuk M. A., Ivanova L. I., Majorova I. G., Tokarev V. E. The method for determining the activity of catalase. *Laboratornoe delo* [Laboratory case], 1988, no. 1, pp. 6–19. (in Russian).
18. International Study of Unruptured Intracranial Aneurysms Investigators. Unruptured intracranial aneurysms – risk of rupture and risks of surgical intervention. *New England Journal of Medicine*, 1998, vol. 339, no. 24, pp. 1725–1733.
19. Kulikov V. P., Doronina N. L., Fedjunina N. G. Ultrasound diagnosis of diseases of the arteries of the head and neck. Ultrasound diagnosis of vascular diseases, in Kulikov V. P. (ed.). Moscow, STROM, 2007, pp. 122–338. (in Russian).
20. Ishikawa N., Kobayashi Y., Fujii Y., Kobayashi M. Increased interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein levels in pediatric epilepsy patients with frequent, refractory generalized motor seizures. *Seizure*, 2015, vol. 25, pp. 136–140.
21. Berg A. T., Berkovic S. F., Brodie M. J., Buchhalter J., Cross J. H., Boas W. V. E., Engel J., French J., Glauser T., Mathern G. W., Moshe S. L., Nordli D., Plouin P., Scheffer I. E. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005–2009. *Epilepsia*, 2010, vol. 51, pp. 676–685.

### Информация об авторах

*Нечипуренко Наталья Ивановна* – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: prof\_NIN@mail.ru.

*Сидорович Рышард Ромуальдович* – д-р мед. наук, доцент, директор Республиканского научно-практического центра неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ninh@mail.ru.

*Пашковская Ирина Дмитриевна* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: irenapass@mail.ru.

*Змачинская Ольга Леонидовна* – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: doctor.olga@tut.by.

*Черненко Наталья Игоревна* – заведующий отделением. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь).

*Бончковская Татьяна Юрьевна* – лаборант. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь).

### Для цитирования

Клинико-функциональные и биохимические нарушения у пациентов с симптоматической эпилепсией при артериальных аневризмах сосудов головного мозга / Н. И. Нечипуренко [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 2. – С. 7–15.

### Information about the authors

*Nechipurenko Natalia Ivanovna* – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skoriny Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus.) E-mail: prof\_NIN@mail.ru.

*Sidorovich Ryszard Romualdovich* – D. Sc. (Med.), Associate Professor, Director. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skoriny Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ninh@mail.ru.

*Pashkovskaya Irina Dmitrievna* – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skoriny Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: irenapass@mail.ru.

*Zmachynskaya Olga Leonidovna* – Researcher. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skoriny Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: doctor.olga@tut.by.

*Chernenko Natalia Igorevna* – Head of the Department. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skoriny Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus).

*Bonchkovskaya Tatiana Yur'evna* – Assistant. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skoriny Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus).

### For citation

Nechipurenko N. I., Sidorovich R. R., Pashkovskaya I. D., Zmachynskaya O. L., Chernenko N. I., Bonchkovskaya T. Yu. Clinico-functional and biochemical abnormalities in patients with symptomatic epilepsy on the background of aneurysms of cerebral arteries. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2017, no. 2, pp. 7–15.

**Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, П. Ф. Юшкевич**

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

### **ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКАЯ И АНТИАРИТМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДИСТАНТНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРFUЗИИ МИОКАРДА У КРЫС С ГИПЕРХОЛЕСТЕРОЛЕМИЕЙ**

Поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического повреждения миокарда является актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины. В клинической практике необходимость защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения чаще всего возникает у пациентов с различными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, к числу которых относится и гиперхолестеролемиа.

Целью исследования было выявление воспроизводимости противоишемического и антиаритмического эффектов дистантного ишемического посткондиционирования (ДИПостК) миокарда у крыс с гиперхолестеролемией. Установлено, что ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с гиперхолестеролемией не эффективно в плане ограничения размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка и эффективно в плане снижения продолжительности нарушений сердечного ритма. Длительность ишемических нарушений сердечного ритма уменьшалась на 85 % ( $p < 0,05$ ). Результаты исследования имеют важное значение для практической медицины. Полученные данные свидетельствуют о необходимости дифференцированного подхода к назначению ДИПостК пациентам с острым инфарктом миокарда. Наличие такого фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний, как гиперхолестеролемиа, может служить критерием для исключения ДИПостК с целью снижения ишемических и реперфузионных повреждений миокарда у таких пациентов.

*Ключевые слова:* противоишемический эффект, антиаритмический эффект, дистантное ишемическое посткондиционирование, гиперхолестеролемиа, зона риска, зона некроза.

**F. I. Vismont, S. N. Chepelev, P. F. Jushkevich**

*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

### **ANTIISCHEMIC AND ANTIARRHYTHMIC EFFICIENCY OF REMOTE ISCHEMIC POST-CONDITIONING DURING ISCHEMIA-REPERFUSION IN RATS WITH HYPERCHOLESTEROLEMIA**

The search for new effective methods of preventing or reducing ischemic myocardial injury is an actual problem of modern experimental and clinical medicine. In clinical practice, the need to protect the myocardium from ischemic and reperfusion injury most often occurs in patients with various risk factors for cardiovascular diseases, including hypercholesterolemia.

The aim of the study was to determine the reproducibility of antiischemic and antiarrhythmic effects of the remote ischemic post-conditioning myocardium of rats with hypercholesterolemia. It was found that the remote ischemic post-conditioning is not effective in terms of necrosis area size limits in the left ventricle during ischemia-reperfusion in rats with hypercholesterolemia. The remote ischemic post-conditioning is effective in reducing the duration of cardiac arrhythmias during acute myocardial ischemia-reperfusion injury in rats with hypercholesterolemia. The duration of ischemic heart rhythm disturbances decreased by 85 % ( $p < 0.05$ ). The results of the performed study are of great importance for practical medicine. The findings indicate the need for a differentiated approach to the appointment of the remote ischemic post-conditioning in patients with acute myocardial infarction. The existence of such a risk factor for cardiovascular diseases such as hypercholesterolemia can be a criterion for exclusion of the remote ischemic post-conditioning as a way of reducing ischemic and reperfusion injury of the myocardium in patients with acute myocardial infarction.

*Keywords:* antiischemic effect, antiarrhythmic effect, remote ischemic post-conditioning, hypercholesterolemia, risk area, necrosis area.

**Введение.** В настоящее время ишемическая болезнь сердца (ИБС) является важнейшей причиной смертности в развитых странах мира и в Республике Беларусь в частности [1]. Большая частота инвалидизации и сложность реабилитации пациентов с инфарктом миокарда обусловили значимость ИБС не только как медицинской, но и как государственной проблемы. В связи с этим поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического повреждения

миокарда остается актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины [2, 3].

В последние годы объектом повышенного интереса ведущих мировых исследователей в области экспериментальной и клинической кардиологии являются кардиопротекторные (противоишемический и антиаритмический) эффекты дистантного ишемического пре- (ДИПК) и посткондиционирования (ДИПостК), которые воспроизводятся с помощью ишемии конечностей, осуществляемой до и после острой ишемии миокарда [4–6].

Важнейшее преимущество ДИПостК перед локальным, облегчающим его внедрение в клиническую практику, состоит в его малой инвазивности, технической простоте и оказании эффекта, сопоставимого с эффектом локального посткондиционирования [2, 5]. Более того, для эффективного применения любого варианта прекодиционирования (локального или дистантного) как меры профилактической кардиопротекции необходимо точно знать время наступления ишемии, что практически невозможно. В связи с этим мощный кардиопротекторный потенциал прекодиционирования остается по большей части клинически не использованным. Таким образом, ишемическое посткондиционирование, особенно дистантное, имеет несомненное преимущество перед различными вариантами прекодиционирования, так как может быть использовано после наступления продолжительной ишемии миокарда, в то время как попытка реализовать прекодиционирование в предынфарктный период осложняется непредсказуемостью времени развития инфаркта.

В клинической практике необходимость защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения чаще всего возникает у пациентов с различными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, к числу которых относится и гиперхолестеролемиа (ГХЕ).

Как известно, ГХЕ, одно из наиболее распространенных нарушений липидного обмена, является фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний [7]. В современной литературе данные экспериментальных исследований, касающихся воспроизводимости кардиопротекторных эффектов локального ишемического пре- и посткондиционирования у экспериментальных животных с ГХЕ весьма противоречивы. Так, результаты одних исследований указывают на отсутствие противоишемических эффектов локального ишемического пре- и посткондиционирования [8–11], а согласно данным других исследований, напротив, у экспериментальных животных с ГХЕ присутствует выраженный инфарктлимитирующий эффект указанных феноменов [12, 13]. Причины такого расхождения результатов исследований до сих пор не выяснены. В то же время изучение противоишемической и антиаритмической эффективности ДИПостК при наличии такого сопутствующего фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний до сих пор не было предметом специального исследования.

Цель настоящей работы – выявление воспроизводимости противоишемического и антиаритмического эффектов дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с гиперхолестеролемией.

**Материалы и методы исследования.** Эффективность ДИПостК изучена на 58 наркотизированных нелинейных белых крысах-самцах массой 200–250 г. Возраст животных –  $4 \pm 1$  мес. Эксперименты выполняли в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными, а также требованиями Директивы Европейского этического комитета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986 г. [14], Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, от 18.03.1986 г. и ТКП 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 56 от 28.03.2008 г. [15].

Животных содержали в условиях вивария УО «БГМУ» согласно нормативам индивидуального размещения [16]. Световой режим соответствовал естественному уровню освещенности в течение суток. Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне 20–25 °С, что находится в пределах термонейтральной зоны для крыс. Относительная влажность воздуха составляла 50–70 %. Температуру и относительную влажность воздуха регистрировали ежедневно с помощью гигрометра психрометрического ВИТ-1. При выполнении работы особое внимание уделяли шумовому режиму содержания животных, так как высокий уровень шума способствует развитию стресса у крыс. Рацион крыс состоял из комбикорма КК-92/ПХЧ-5, количество которого

определялось нормами кормления лабораторных животных [17]. Питьевой режим соответствовал принципу *ad libitum*. Все манипуляции с крысами в течение дня проводили с 8.00 до 18.00. Формирование экспериментальных групп животных осуществляли методом случайной выборки.

ГХЕ вызывали путем интрагастрального введения крысам ( $n = 37$ ) с помощью металлического атравматического зонда длиной 8 см и оливкой диаметром 2 мм 10 %-ного раствора холестерина (Sigma, США), приготовленного на оливковом масле, в дозе 10 мл/кг 1 раз в сутки в течение 10 сут. Контролем служили животные с аналогичными характеристиками ( $n = 21$ ), которым в течение 10 сут интрагастрально вводили оливковое масло в дозе 10 мл/кг (крысы без ГХЕ). Для подтверждения наличия ГХЕ у животных выполняли биохимическое исследование сыворотки крови с помощью биохимического анализатора Olympus (8 крыс с ГХЕ, 8 крыс без ГХЕ). С этой целью из левой общей яремной вены осуществляли забор крови в объеме 1 мл. При проведении биохимического исследования в сыворотке крови крыс с помощью ферментативного метода определяли содержание общего холестерина (ОХ) и триглицеридов (ТГ), используя наборы реагентов научно-технического производственного кооператива «Анализ Х» (Беларусь).

Острую коронарную недостаточность у крыс воспроизводили по методике, описанной С. Clark и соавт. [18]. Моделирование острой коронарной недостаточности у крыс с ГХЕ/без ГХЕ выполняли через 24 ч после последнего введения животным холестерина/оливкового масла. Для наркотизации животных использовали этаминал натрия в дозе 50 мг/кг внутривенно с последующей внутривенной инфузией поддерживающей дозы 10 мг/кг·ч. Крыс переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом при помощи аппарата ИВЛ (частота дыхания составляла 56–60 в минуту). Наличие проходимости дыхательных путей контролировали по давлению в трахее, нормальным значением которого на вдохе считалось 10–15 мм рт. ст. Температуру тела измеряли в прямой кишке с помощью электротермометра Harvard (Великобритания) и поддерживали электрогрелкой на уровне  $37,0 \pm 0,5$  °С. Грудную клетку наркотизированного животного вскрывали в четвертом межреберном промежутке слева. После периода 15-минутной стабилизации гемодинамики крысам выполняли 30-минутную окклюзию передней нисходящей коронарной артерии (ПНКА) путем механического ее пережатия при помощи фишки. Согласно современным экспериментальным данным, считается, что длительность коронарной окклюзии у крыс, равная 30–40 мин, является достаточной для формирования зоны некроза миокарда, составляющей около 50 % от зоны риска [5]. Окклюзия артерии подтверждалась цианозом ишемизированной области, снижением артериального давления (АД) на 10–20 мм рт. ст. и подъемом сегмента ST на ЭКГ. Реперфузия миокарда достигалась путем удаления фишки и подтверждалась исчезновением цианоза и возвращением сегмента ST к изолинии. Длительность реперфузии составляла 120 мин, поскольку, согласно имеющимся литературным данным, указанный интервал времени является достаточным для формирования в миокарде крыс зоны некроза [19].

ДИПостК выполняли в соответствии с протоколом исследования, представленным М. Basalay и соавт. [5], согласно которому животные опытных групп с ГХЕ (ДИПостК,  $n = 12$ ) дополнительно подвергались воздействию 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий через 10 мин после 30-минутной острой ишемии миокарда. Через 24 ч после последнего введения оливкового масла по этому же протоколу выполняли эксперименты на крысах без ГХЕ (контроль,  $n = 7$ ; ДИПостК,  $n = 7$ ).

В ходе экспериментов непрерывно регистрировали ЭКГ во II стандартном отведении и системное АД, полученные при этом данные обрабатывали с помощью компьютерной программы Spike 4. Для определения АД крысам канюлировали правую общую сонную артерию. Изучали также следующие показатели гемодинамики: среднее АД ( $AD_{cp}$ ), частоту сердечных сокращений (ЧСС), двойное произведение (ДП).  $AD_{cp}$  рассчитывали как АД диастолическое + 1/3 (АД систолическое – АД диастолическое), ДП – как ЧСС×АД систолическое/100. Показатели гемодинамики регистрировали непрерывно в течение эксперимента и оценивали в конце 15-минутной стабилизации гемодинамики после вскрытия грудной клетки, в начале 30-минутной окклюзии ПНКА, в начале реперфузии, а также каждые 30 мин в течение реперфузии.

Зону риска выявляли путем внутривенного введения в левую общую яремную вену 0,5 мл 5 %-ного раствора синьки Эванса (Sigma, США). Для идентификации зоны риска в миокарде ле-

вого желудочка крыс использовали метод, основанный на выявлении активности дегидрогеназ [19]. Зона риска определялась как зона, не окрашенная в синий цвет. Затем сердце извлекали и отделяли правый желудочек. После замораживания в морозильной камере (при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин) левый желудочек разрезали на 6 поперечных срезов, которые затем взвешивали на торсионных весах и сканировали при помощи сканера HP с обеих сторон. После этого для идентификации зоны некроза срезы помещали в 1 %-ный раствор трифенилтетразолия хлорида на 15 мин при температуре  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Жизнеспособный миокард (клетки, сохранившие дегидрогеназную активность) окрашивался в кирпично-красный цвет, а некротизированная ткань была белесой. После 24-часовой инкубации в 10 %-ном растворе формалина срезы сканировали повторно для определения соотношения площадей зоны риска и зоны некроза. При помощи компьютерной планиметрии и взвешивания срезов миокарда левого желудочка определяли соотношение масс зон риска и зон некроза с использованием программы Adobe Photoshop 6.0.

Для оценки антиаритмического эффекта ДИПостК определяли общую длительность нарушенный сердечного ритма во время 30-минутной острой коронарной окклюзии (фибрилляции желудочков (ФЖ), пароксизмальной желудочковой тахикардии (ПЖТ), парной желудочковой экстрасистолии, желудочковой экстрасистолии по типу бигеминии), а также оценивали наличие реперфузионных нарушений сердечного ритма. На основе полученных данных рассчитывали медиану (Me) и интерквартильный размах (25-й; 75-й процентиля). При сравнении групп использовали критерий Крускала–Уоллиса и тест множественных сравнений Данна.

Критериями исключения животных из опытов являлись ЧСС  $< 300$  уд/мин и АД<sub>ср</sub>  $< 60$  мм рт. ст. до начала эксперимента.

Полученные в ходе исследования результаты анализировали с использованием стандартных пакетов статистических программ Statistica 8.0 и GraphPad Prism. Для оценки нормальности распределения анализируемых показателей применяли критерий Колмогорова–Смирнова. Статистическую значимость различий полученных данных в случае их параметрического распределения оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием тестов множественных сравнений Данна и Бонферрони. Результаты исследования при их параметрическом распределении представлялись в виде  $M \pm m$  (среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего). Для оценки статистической значимости различий в случае непараметрического распределения данных использовали критерий Крускала–Уоллиса и тест множественных сравнений Данна. При непараметрическом распределении результаты исследования представляли в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й; 75-й процентиля). Статистическую значимость различий качественных параметров оценивали с помощью точного метода Фишера (ТМФ). Уровень  $p < 0,05$  рассматривался как статистически значимый.

**Результаты и их обсуждение.** Выживаемость крыс с ГХЕ после острой коронарной окклюзии составила 56,8 % (16 крыс из 37 погибли во время острой ишемии миокарда). При этом показатель выживаемости в контрольной группе составил 63,6 %, в группе ДИПостК – 58,3 %.

У крыс с ГХЕ ( $n = 8$ ) содержание ОХ в сыворотке крови составило  $5,74 \pm 0,44$  ммоль/л ( $p < 0,01$ ), ТГ –  $1,21 \pm 0,17$  ммоль/л ( $p < 0,01$ ). У крыс без ГХЕ ( $n = 8$ ) содержание ОХ составило  $1,61 \pm 0,14$  ммоль/л, ТГ –  $0,50 \pm 0,05$  ммоль/л. Таким образом, результаты биохимического исследования сыворотки крови свидетельствовали о наличии ГХЕ у крыс, которым в течение 10 сут интрагастрально вводили 10 %-ный раствор холестерина.

Изменения показателей гемодинамики на протяжении эксперимента (после вскрытия грудной клетки, в начале 30-минутной ишемии миокарда, в начале реперфузии и далее каждые 30 мин в течение реперфузии) у крыс с ГХЕ ( $n = 7$ ) и крыс без ГХЕ ( $n = 7$ ) представлены в таблице.

В группах крыс с ГХЕ в течение первых минут после окклюзии ПНКА отмечалось кратковременное (3–5 мин), статистически не значимое снижение АД<sub>ср</sub> (примерно на 10–15 мм рт. ст.). В дальнейшем в период реперфузии миокарда показатель АД<sub>ср</sub> во всех группах крыс с ГХЕ оставался относительно стабильным по сравнению с его исходным значением ( $p < 0,05$ ). Статистически значимых отличий по показателю ЧСС между крысами с ГХЕ в исследуемых группах на протяжении всего эксперимента не выявлено ( $p > 0,05$ ). В начале реперфузии миокарда во всех группах крыс с ГХЕ отмечалось статистически не значимое повышение ЧСС (примерно на 20–30 уд/мин).

**Показатели гемодинамики (АД<sub>ср</sub>, мм рт. ст., и ЧСС, уд/мин) у животных контрольной группы  
Hemodynamics indices (AP<sub>mean</sub>, mm Hg, and HR, bpm) of the animals of the control group and in the remote ischemic post-conditioning groups of rats with hypercholesterolemia and without hypercholesterolemia**

Показатель		Контроль		ДИПостК	
		Крысы с ГХЕ	Крысы без ГХЕ	Крысы с ГХЕ	Крысы без ГХЕ
До начала ОИМ	АД <sub>ср</sub>	76 ± 5	86 ± 5	73 ± 3	73 ± 3
	ЧСС	424 ± 16	417 ± 9	456 ± 11	410 ± 16
Начало ОИМ	АД <sub>ср</sub>	73 ± 3	77 ± 8	64 ± 3	74 ± 4
	ЧСС	425 ± 12	439 ± 6	433 ± 19	429 ± 14
Начало реперфузии	АД <sub>ср</sub>	78 ± 5	74 ± 2	67 ± 2	74 ± 4
	ЧСС	446 ± 25	413 ± 16	44 ± 8	410 ± 23
30' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	83 ± 7	74 ± 4	72 ± 4	75 ± 4
	ЧСС	466 ± 20	411 ± 12	446 ± 19	404 ± 22
60' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	77 ± 8	73 ± 4	73 ± 5	78 ± 4
	ЧСС	433 ± 13	413 ± 15	467 ± 24	410 ± 22
90' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	71 ± 6	78 ± 3	69 ± 6	77 ± 4
	ЧСС	432 ± 13	433 ± 14	462 ± 25	396 ± 19
120' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	70 ± 5	82 ± 5	67 ± 6	85 ± 3
	ЧСС	434 ± 10	436 ± 20	435 ± 19	426 ± 16

В дальнейшем в период реперфузии ЧСС у крыс с ГХЕ оставалась относительно стабильной по сравнению с исходными значениями данного показателя ( $p < 0,05$ ).

При сравнении ДП, характеризующего потребность миокарда в кислороде, во всех группах крыс с ГХЕ и крыс без ГХЕ до начала эксперимента статистически значимых различий не выявлено ( $p > 0,05$ ). На протяжении эксперимента значения ДП в группах крыс с ГХЕ и крыс без ГХЕ статистически значимо не отличались от исходных ( $p > 0,05$ ).

Длительность нарушений ритма сердца во время 30-минутной ишемии миокарда у крыс с ГХЕ и крыс без ГХЕ представлена на рис. 1.

У крыс с ГХЕ во время 30-минутной ишемии миокарда продолжительность нарушений сердечного ритма в контрольной группе составила 315 (157; 563) с, в группе после ДИПостК – 96 (76; 156) с ( $p < 0,05$ ). У крыс без ГХЕ длительность аритмии во время острой ишемии миокарда в контрольной

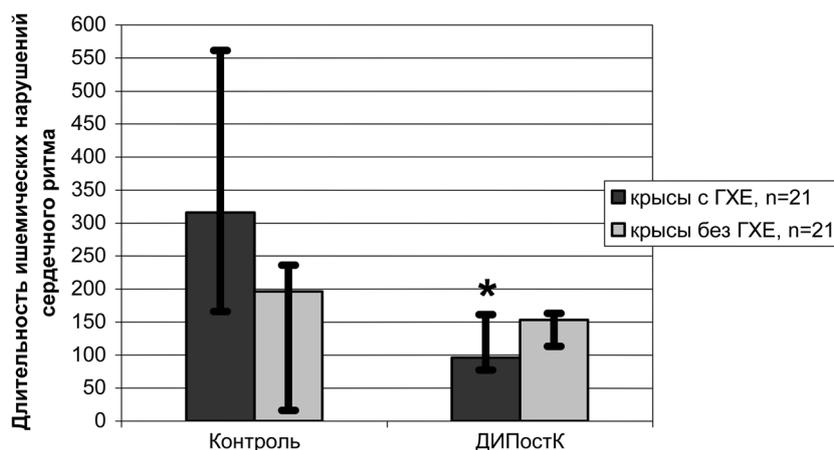


Рис. 1. Длительность нарушений сердечного ритма (в секундах) во время 30-минутной ишемии миокарда у животных контрольной группы и у крыс, которым воспроизводилось ДИПостК (крысы с ГХЕ и крысы без ГХЕ).  
\* – статистически значимые отличия длительности ишемических нарушений сердечного ритма у крыс с ГХЕ в группе ДИПостК по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе ( $p < 0,05$ )

Fig. 1. Duration of ischemic heart rhythm disturbances (in seconds) for 30-min myocardium ischemia of the animals of the remote ischemic post-conditioning groups (rats with hypercholesterolemia and rats without hypercholesterolemia).  
\* – statistically important differences of the duration of ischemic heart rhythm disturbances of rats with hypercholesterolemia in the remote ischemic post-conditioning group in comparison to the same index in the control group ( $p < 0,05$ )

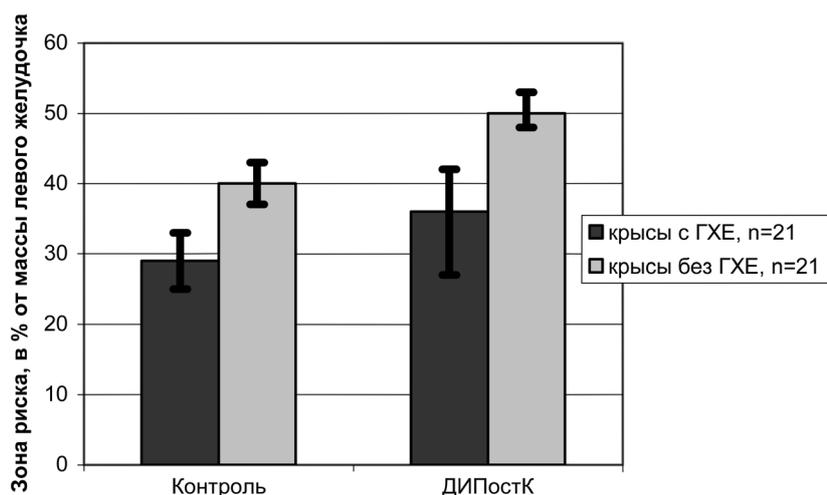


Рис. 2. Размеры зоны риска (в % от массы левого желудочка) в контрольной группе и в группах крыс, в которых воспроизводилось ДИПостК (крысы с ГХЕ и крысы без ГХЕ)

Fig. 2. Risk area sizes (% of the mass of the left ventricle) in the control group and in the remote ischemic post-conditioning groups (rats with hypercholesterolemia and rats without hypercholesterolemia)

группе составила 198 (14; 239) с, в группе с ДИПостК – 153 (109; 166). При этом у 5 из 7 крыс отмечалась ФЖ, а у 6 из 7 – ПЖТ. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма имели место у 6 крыс контрольной группы. В группе крыс с ГХЕ, в которой воспроизводилось ДИПостК, во время острой ишемии миокарда отмечались нарушения ритма сердца продолжительностью от 19 до 188 с. Лишь у 1 из 7 крыс данной группы выявлена ФЖ, а ПЖТ – у 5. Реперфузионные нарушения сердечного ритма выявлены у 3 животных группы ДИПостК.

Таким образом, установлено, что, несмотря на то что ДИПостК не оказывает влияния на нарушения сердечного ритма во время острой ишемии миокарда, в группе ДИПостК у крыс с ГХЕ имеет место статистически значимое снижение продолжительности ишемических нарушений сердечного ритма по сравнению с таковой у крыс с ГХЕ контрольной группы.

При воспроизведении ДИПостК у крыс без ГХЕ длительность аритмий во время острой коронарной ишемии в контрольной группе составила 230 (102; 302) с, в группе ДИПостК – 212 (99; 301) с. Следовательно, у крыс без ГХЕ показатели длительности аритмий во время острой коронарной ишемии в контрольной группе и в группе ДИПостК сопоставимы.

Несмотря на наличие тенденции к снижению размеров зоны риска в миокарде левого желудочка у крыс с ГХЕ всех групп по сравнению с крысами без ГХЕ, статистически значимых различий по данному показателю между анализируемыми группами крыс с ГХЕ и крыс без ГХЕ не выявлено ( $p > 0,05$ ). Таким образом, размеры зоны риска во всех группах крыс были сопоставимы (рис. 2).

На рис. 3 представлены размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка у крыс с ГХЕ и у крыс без ГХЕ. Размер зоны некроза в миокарде левого желудочка в контрольной группе крыс с ГХЕ составил  $38 \pm 4$  %, у крыс без ГХЕ –  $44 \pm 5$  %. В группе крыс с ГХЕ, в которых воспроизводилось ДИПостК, отмечался сопоставимый с группой контроля размер зоны некроза –  $43 \pm 6$  %. У крыс без ГХЕ контрольной группы выявлена зона некроза размером  $46 \pm 4$  %, а в группе ДИПостК – размером  $25 \pm 2$  % ( $p < 0,01$ ).

Следовательно, данные исследования свидетельствуют об отсутствии противоишемического эффекта ДИПостК у крыс с ГХЕ. У крыс без ГХЕ, напротив, воспроизводится выраженный противоишемический эффект ДИПостК.

Согласно современным представлениям, размер очага некроза в миокарде зависит от множества факторов, в частности от длительности ишемии миокарда, размера зоны риска, температуры тела, состояния сосудистого русла, наличия сопутствующих заболеваний и нарушений обмена веществ, в том числе липидного обмена. В ходе исследования длительность ишемии миокарда и температура тела животных имели одинаковые значения во всех экспериментальных группах. Учитывая наличие тенденции к снижению размеров зоны риска в миокарде левого желудочка

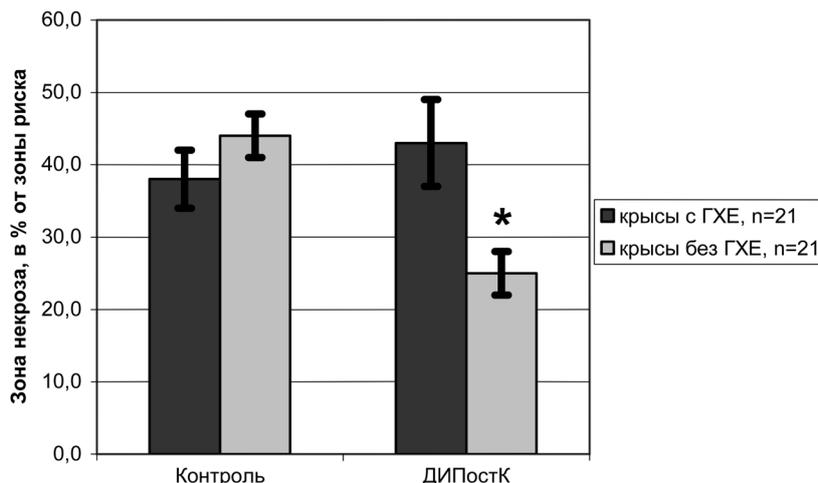


Рис. 3. Размеры зоны некроза (в % от зоны риска) в контрольной группе и в группах крыс, в которых воспроизводилось ДИПостК (крысы с ГХЕ и крысы без ГХЕ). \* – статистически значимые отличия размеров зоны некроза в группе ДИПостК по сравнению с контрольной группой крыс без ГХЕ ( $p < 0,01$ )

Fig. 3. Necrosis area sizes (% of the risk area) in the control group and in the remote ischemic post-conditioning groups (rats with hypercholesterolemia and rats without hypercholesterolemia). \* – statistically important differences in the necrosis area sizes in the remote ischemic post-conditioning group of rats in comparison with the control group of rats without hypercholesterolemia ( $p < 0.01$ )

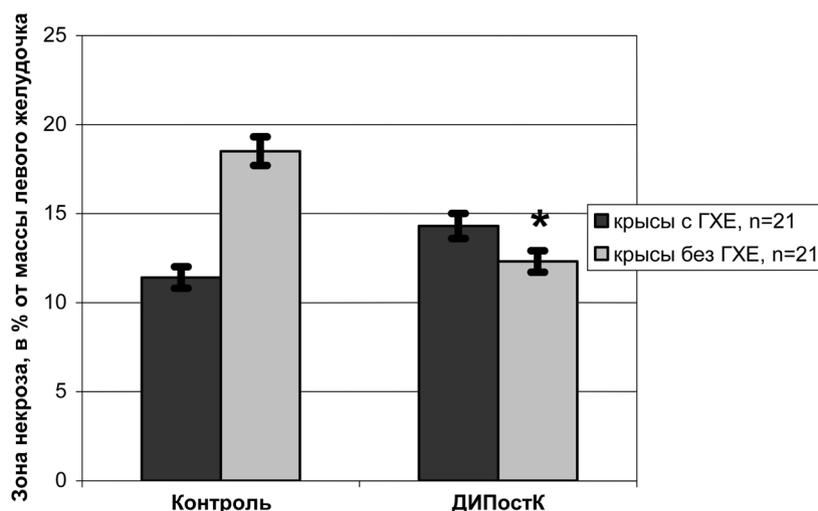


Рис. 4. Размеры зоны некроза (в % от массы левого желудочка) в контрольной группе и в группах крыс, в которых воспроизводилось ДИПостК (крысы с ГХЕ и крысы без ГХЕ). \* – статистически значимые отличия размеров зоны некроза в группе ДИПостК по сравнению с контрольной группой у крыс без ГХЕ ( $p < 0,01$ )

Fig. 4. Necrosis area sizes (% of the mass of the left ventricle) in the control group and in the remote ischemic post-conditioning groups (rats with hypercholesterolemia and rats without hypercholesterolemia). \* – statistically important differences in the necrosis area sizes in the remote ischemic post-conditioning group in comparison with the control group of rats without hypercholesterolemia ( $p < 0.01$ )

в группе крыс с ГХЕ по сравнению с крысами без ГХЕ, можно предполагать, что меньшие размеры зоны риска у крыс с ГХЕ способствовали формированию более низких значений размеров зоны некроза миокарда. Дополнительный расчет размеров зоны некроза миокарда (в % от массы левого желудочка) показал, что средняя зона некроза в контрольной группе крыс с ГХЕ  $11,4 \pm 0,6 \%$ , у крыс без ГХЕ –  $18,5 \pm 0,8 \%$  (рис. 4). В группе крыс с ГХЕ, в которых воспроизводилось ДИПостК, размер зоны некроза составил  $14,3 \pm 0,7 \%$ , у крыс без ГХЕ –  $12,3 \pm 0,6 \%$  ( $p < 0,01$ ). Таким образом, в группах крыс с ГХЕ, в которых воспроизводилось ДИПостК, размеры зоны некроза также были сопоставимы с таковыми в контрольной группе. Следовательно, есть основания полагать, что в данной ситуации размеры зоны риска в миокарде левого желу-

дочка не оказывали существенного влияния на воспроизводимость противоишемического эффекта ДИПостК у крыс с ГХЕ.

Известно, что при наличии ГХЕ у экспериментальных животных отсутствие противоишемического эффекта локального ишемического пре- и посткондиционирования может быть связано с нарушением синтеза монооксида азота (NO), который также имеет важное значение в реализации кардиопротекторных эффектов указанных феноменов [20–22]. В частности, при ГХЕ нарастающая митохондриальная дисфункция сопровождается повышением оксидации тетрагидробиоптерина (ТГБП), что приводит к снижению его содержания в клетке. Потеря ТГБП как молекулы-кофактора эндотелиальной NO-синтазы вызывает значительное снижение активности данного фермента.

Таким образом, принимая во внимание возможную общность механизмов реализации кардиопротекторных эффектов феноменов локального и дистантного ишемического посткондиционирования, нарушение синтеза NO может объяснить отсутствие противоишемического эффекта ДИПостК у крыс с экспериментальной моделью ГХЕ.

**Заключение.** Установлено, что дистантное ишемическое посткондиционирование у крыс с ГХЕ не эффективно в плане ограничения размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка при ишемии-реперфузии миокарда и эффективно в плане снижения продолжительности нарушений сердечного ритма во время острой ишемии-реперфузии миокарда.

#### Список использованных источников

1. Сердечно-сосудистые заболевания в Республике Беларусь: анализ ситуации и стратегии контроля / А. Г. Мрочек [и др.] ; Нац. акад. наук Беларуси, Отд-ние мед. наук, Респ. науч.-практ. центр «Кардиология». – Минск : Беларус. наука, 2011. – 341 с.
2. Шляхто, Е. В. Ограничение ишемического и реперфузионного повреждения миокарда с помощью пре- и посткондиционирования: молекулярные механизмы и мишени для фармакотерапии / Е. В. Шляхто, Е. М. Нифонтов, М. М. Галагурда // Креатив. кардиология. – 2007. – № 1/2. – С. 75–101.
3. Cokkinos, D. V. Myocardial protection in man – From research concept to clinical practice / D. V. Cokkinos, C. Pantos // Heart Fail. Rev. – 2007. – Vol. 12, N 3/4. – P. 345–362.
4. Hausenloy, D. J. Preconditioning and postconditioning: united at reperfusion / D. J. Hausenloy, D. M. Yellon // Pharmacol Ther. – 2007. – Vol. 116, iss. 2. – P. 173–191.
5. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms / M. Basalay [et. al.] // J. Exp. Physiol. – 2012. – Vol. 97, N 8. – P. 908–917.
6. Schmidt, M. R. Remote ischemic preconditioning: no loss in clinical translation / M. R. Schmidt, S. B. Kristiansen, H. E. Botker // Circ. Res. – 2013. – Vol. 113, N 12. – P. 1278–1280.
7. Effect of hypercholesterolemia on myocardial necrosis and apoptosis in the setting of ischemia-reperfusion / R. M. Osipov [et al.] // Circulation. – 2009. – Vol. 120, suppl. 11. – P. 22–30.
8. The loss of pacing-induced preconditioning in atherosclerotic rabbits: role of hypercholesterolemia / Z. Szilvassy [et al.] // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1995. – Vol. 27, iss. 12. – P. 2559–2569.
9. The cardioprotective effect of postconditioning is lost in cholesterol diet-induced hyperlipidemia in rats / K. Krisztina [et al.] // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2006. – Vol. 40, iss. 6. – P. 976–977.
10. Hypercholesterolemia fibrogates the cardioprotection of ischemic postconditioning in isolated rat heart: roles of glycogen synthase kinase-3 $\beta$  and the mitochondrial permeability transition pore / N. Wu [et al.] // Cell. Biochem. Biophys. – 2014. – Vol. 69, iss. 1. – P. 123–130.
11. High cholesterol diet effects on ischemia-reperfusion injury of the heart / V. D'Annunzio [et al.] // Can. J. Physiol. Pharmacol. – 2012. – Vol. 90, iss. 9. – P. 1185–1196.
12. Preconditioning limits myocardial infarct size in hypercholesterolemic rabbits / D. T. Kremastinos [et al.] // Atherosclerosis. – 2000. – Vol. 150, iss. 1. – P. 81–89.
13. The effectiveness of postconditioning and preconditioning on infarct size in hypercholesterolemic and normal anesthetized rabbits / E. K. Iliodromitis [et al.] // Atherosclerosis. – 2006. – Vol. 188, iss. 2. – P. 356–362.
14. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes [Electronic resource]. – Mode of access: [www.eur-lex.europa.eu](http://www.eur-lex.europa.eu). – Date of access: 21.05.2012.
15. Надлежащая лабораторная практика = Належная лабораторная практика = Good Laboratory Practice (GLP) : ТКП 125-2008 (02040). – Введ. 01.05.2008. – Минск : М-во здравоохранения Респ. Беларусь, 2008. – 35 с. – (Технический кодекс установившейся практики).
16. Ветеринарно-санитарные правила по приему, уходу и вскрытию подопытных животных в вивариях научно-исследовательских институтов, станциях, лабораториях, учебных заведениях, а также в питомниках [Электронный ресурс] : ВСП, 21 мая 2010 г., № 36 // Национальный фонд технических нормативных правовых актов Республики Беларусь. – Режим доступа: [www.tnra.by](http://www.tnra.by). – Дата доступа: 11.05.2012.

17. О нормах кормления лабораторных животных и продуцентов [Электронный ресурс] : приказ М-ва здравоохранения СССР, 10 марта 1966 г., № 163 // Полное собрание законодательства СССР. – Режим доступа: [www.ussrdoc.com](http://www.ussrdoc.com). – Дата доступа: 01.04.2012.
18. Clark, C. Coronary artery ligation in anesthetized rats as a method for the production of experimental dysrhythmias and for the determination of infarct size / C. Clark // *J. Pharmacol. Methods*. – 1980. – Vol. 3, N 4. – P. 357–368.
19. Fishbein, M. C. Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique / M. C. Fishbein // *Am. Heart J.* – 1981. – Vol. 101, N 5. – P. 593–600.
20. Ischemic preconditioning and infarct mass: the effect of hypercholesterolemia and endothelial dysfunction / O. Jung [et al.] // *Clin. Exp. Hypertens.* – 2000. – Vol. 22, iss. 2. – P. 165–179.
21. Sack, M. The role of co-morbidities in cardioprotection / M. Sack, E. Murphy // *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* – 2011. – Vol. 16, N 3/4. – P. 267–272.
22. Самойлов, М. О. Сигнальные молекулярные и гормональные механизмы формирования протективных эффектов гипоксического preconditionирования / М. О. Самойлов, Е. А. Рыбникова, А. В. Чурилова // *Патолог. физиология и эксперим. терапия*. – 2012, № 3. – С. 3–10.

## References

1. Mrochek A. G., Grakovich A. A., Kozlov I. D., Gorbachev V. V. *Cardiovascular diseases in the Republic of Belarus: the analysis of the situation and control strategy*. Minsk, Belaruskaja navuka [Belarusian science], 2011, 341 p. (in Russian).
2. Shliakhto E. V., Nifontov E. M., Galagurda M. M. Limitation of ischemic and reperfusion injury of the myocardium using pre- and postconditioning: molecular mechanisms and targets for pharmacotherapy. *Kreativnaia kardiologija* [Creative Cardiology], 2007, no. 1/2, pp. 75–101. (in Russian).
3. Cokkinos D. V., Pantos C. Myocardial protection in man – From research concept to clinical practice. *Heart Failure Reviews*, 2007, vol. 12, no. 3/4, pp. 345–362. doi: 10.1007/s10741-007-9030-5.
4. Haunsenloy D. J., Yellon D. M. Preconditioning and postconditioning: united at reperfusion. *Pharmacology & Therapeutics*, 2007, vol. 116, no. 2, pp. 173–191. doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.06.005.
5. Basalay M., Barsukevich V., Mastitskaya S., Mrochek A., Pernow J., Sjöquist P. O., Ackland G. L., Gourine A. V., Gourine A. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms. *Journal of Experimental Physiology*, 2012, vol. 97, no. 8, pp. 908–917. doi: 10.1113/expphysiol.2012.064923.
6. Schmidt M. R., Kristiansen S. B., Botker H. E. Remote ischemic preconditioning: no loss in clinical translation. *Circulation Research*, 2013, no. 12, pp. 1278–1280. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.113.302942.
7. Osipov R. M., Bianchi C., Feng J., Clements R. T., Liu Yu., Robich M. P., Glazer H. P., Sodha N. R., Sellke F. W. Effect of hypercholesterolemia on myocardial necrosis and apoptosis in the setting of ischemia-reperfusion. *Circulation*, 2009, vol. 120, no. 11, pp. 22–30. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.842724.
8. Szilvassy Z., Ferdinandy P., Szilvassy Ju., Nagy I., Karcso S., Lonovics J., Dux L., Koltai M. The loss of pacing-induced preconditioning in atherosclerotic rabbits: role of hypercholesterolemia. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 1995, vol. 27, no. 12, pp. 2559–2569. doi: <http://dx.doi.org/10.1006/jmcc.1995.0043>.
9. Krisztina K., Csonka C., Bencsik P., Fodor G., Ferdinandy P. The cardioprotective effect of postconditioning is lost in cholesterol diet-induced hyperlipidemia in rats. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2006, vol. 40, no. 6, pp. 976–977. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmcc.2006.03.168>.
10. Wu N., Zhang X., Guan Y., Shu W., Jia P., Jia D. Hypercholesterolemia fibrogates the cardioprotection of ischemic postconditioning in isolated rat heart: roles of glycogen synthase kinase-3 $\beta$  and the mitochondrial permeability transition pore. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 2014, vol. 69, no. 1, pp. 123–130. doi:10.1007/s12013-013-9778-2.
11. D'Annunzio V., Donato M., Buchholz B., Pérez V., Miksztovcz V., Berg G., Gelpi R. J. High cholesterol diet effects on ischemia-reperfusion injury of the heart. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 2012, vol. 90, no. 9, pp. 1185–1196. doi: 10.1139/y2012-085.
12. Kremastinos D. T., Bofilis E., Karavolias G. K., Papalois A., Kaklamanis L., Iliodromitis E. K. Preconditioning limits myocardial infarct size in hypercholesterolemic rabbit. *Atherosclerosis*, 2000, vol. 150, no. 1, pp. 81–89.
13. Iliodromitis E. K., Zoga A., Vrettou A., Andreadou I., Paraskevaidis I. A., Kaklamanis L., Kremastinos D. T. The effectiveness of postconditioning and preconditioning on infarct size in hypercholesterolemic and normal anesthetized rabbits. *Atherosclerosis*, 2006, vol. 188, no. 2, pp. 356–362. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2005.11.023>.
14. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Available at: <http://www.eur-lex.europa.eu>. (Accessed 21 May 2012).
15. Good Laboratory Practice (GLP), TCP 125-2008 (02040), Technical Code of Good Practice. Minsk, Ministerstvo zdavoohranenija Respubliki Belarus' [Ministry of Health of the Republic of Belarus], 2008. 35 p. (in Russian).
16. The animal health rules for the reception, care and dissection of the experimental animals in the vivarium research institutes, stations, laboratories, schools and nurseries, VSP, May 21, 2010, no. 36. *The National Fund of Technical Legal Acts of the Republic of Belarus*. Available at: <http://www.tnpa.by> (Accessed 11 May 2012). (in Russian).
17. On the norms of feeding laboratory animals and producers, Order of Health of the USSR M-va, 10 March 1966, no. 163. *Complete Collection of legislation of the USSR*. Available at: <http://www.ussrdoc.com>. (Accessed 01 April 2012). (in Russian).
18. Clark C. Coronary artery ligation in anesthetized rats as a method for the production of experimental dysrhythmias and for the determination of infarct size. *Journal of Pharmacological Methods*, 1980, vol. 3, no. 4, pp. 357–368. (in Russian).

19. Fishbein M. C. Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *American Heart Journal*, 1981, vol. 101, no. 5, pp. 593–600.

20. Jung O., Jung W., Malinski T., Wiemer G., Schoelkens B. A., Linz W. Ischemic preconditioning and infarct mass: the effect of hypercholesterolemia and endothelial dysfunction. *Clinical and Experimental Hypertension*, 2000, vol. 22, no. 2, pp. 165–179.

21. Sack M., Murphy E. The role of co-morbidities in cardioprotection. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 2011, vol. 16, no. 3/4, pp. 267–272.

22. Samoylov M. O., Rybnikova E. A., Churilova A. V. Signal molecular and hormonal mechanisms of formation of the hypoxic preconditioning protective effects. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya* [Pathological Physiology and Experimental Therapy], 2012, no. 3. pp. 3–10. (in Russian).

### Информация об авторах

*Висмонт Франтишек Иванович* – чл.-кор. НАН Беларуси, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patfiz@bsmu.by.

*Чепелев Сергей Николаевич* – ассистент кафедры. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patfiz@bsmu.by.

*Юшкевич Павел Францевич* – канд. мед. наук, ассистент кафедры. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patfiz@bsmu.by.

### Для цитирования

Висмонт, Ф. И. Противоишемическая и антиаритмическая эффективность дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с гиперхолестеролиемией / Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, П. Ф. Юшкевич // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 2. – С. 16–25.

### Information about the authors

*Vismont Frantisek Ivanovich* – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by.

*Chepelev Sergey Nikolaevich* – Assistant of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by.

*Jushkevich Pavel Francevich* – Ph. D. (Med.), assistant of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by.

### For citation

Vismont F. I., Chepelev S. N., Jushkevich P. F. Antiischemic and antiarrhythmic efficiency of remote ischemic post-conditioning during ischemia-reperfusion in rats with hypercholesterolemia. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2017, no. 2, pp. 16–25.

**В. А. Лавриненко, Ю. Е. Марейко, Е. Ю. Березовская, О. И. Быданов,  
М. В. Белевцев, Н. В. Минаковская, О. В. Алейникова**

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

### **ДИНАМИКА ХИМЕРИЗМА КАК ФАКТОР ПРОГНОЗА РАЗВИТИЯ РЕЦИДИВОВ ПОСЛЕ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

Рецидив основного заболевания остается одной из главных проблем и наиболее частых причин смертности после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) у пациентов с онкогематологическими заболеваниями (ОГЗ). Мониторинг химеризма позволяет оценить приживление трансплантата и предсказать развитие рецидивов. Изучены результаты 104 аллоТГСК, которые были проведены с 2009 по 2016 г. у пациентов с ОГЗ. Установлено, что увеличивающийся смешанный химеризм (СХ) является неблагоприятным фактором прогноза для бес-событийной выживаемости ( $HR = 6,9, p < 0,0001$ ) и ассоциирован с высоким риском развития рецидивов ( $HR = 12,2, p < 0,0001$ ) после аллоТГСК. Бессобытийная выживаемость в группе с полным донорским (ПДХ), уменьшающимся СХ и увеличивающимся СХ составила  $68,1 \pm 6,4; 60,0 \pm 21,9$  и  $0\%$  ( $p < 0,0001$ ), кумулятивная частота развития рецидивов –  $10,8 \pm 4,6; 0$  и  $81,3 \pm 10,8\%$  ( $p < 0,0001$ ) соответственно. Увеличение клеток реципиента выявлялось за 2–435 (медиана 23,5) сут до гематологического рецидива в 10 (62,5%) из 16 случаев. Увеличивавшийся СХ раньше и чаще выявлялся в костном мозге, чем в периферической крови ( $p = 0,06$ ). В разгар гематологического рецидива химеризм в периферической крови может быть полностью донорским. У пациентов с полным донорским химеризмом развитие острой реакции «трансплантат против хозяина» наблюдалось чаще, чем у пациентов с СХ ( $p = 0,0004$ ).

*Ключевые слова:* химеризм, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, рецидив, реакция «трансплантат против хозяина», прогноз, дети.

**V. A. Lavrinenko, Yu. E. Mareika, E. Yu. Berezovskaya, O. I. Bydanov, M. V. Belevtsev,  
N. V. Minakovskaya, O. V. Aleynikova**

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

### **CHIMERISM AS A PROGNOSTIC FACTOR OF RELAPSE AFTER ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES**

Relapse remains one of the main causes of treatment failure and mortality after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloHSCT) in patients with hematological malignancies. Chimerism monitoring provides information on engraftment and risk of relapse. The results of 104 alloHSCT performed in patients with hematological malignancies during 2009–2016 were included. Increasing mixed chimerism (MC) was an unfavorable prognostic factor for the event-free survival (EFS) ( $HR = 6.9, p < 0.0001$ ) and was associated with a high risk of relapse after alloHSCT ( $HR = 12.2, p < 0.0001$ ). EFS in patients with full donor chimerism (FDC), decreasing MC, increasing MC was  $68.1 \pm 6.4; 60.0 \pm 21.9$  and  $0\%$  ( $p < 0.0001$ ), the cumulative incidence of relapse was  $10.8 \pm 4.6; 0$  and  $81.3 \pm 10.8\%$  ( $p < 0.0001$ ), respectively. Increasing MC was detected in 2–435 (median 23.5) days before relapse in 10 (62.5%) of 16 cases. Increasing MC appeared in bone marrow earlier and more often than in peripheral blood ( $p = 0.06$ ). During hematologic relapse, FDC in peripheral blood can be observed. A graft-versus-host disease was observed more often in patients with full donor chimerism than with MC ( $p = 0.0004$ ).

*Keywords:* chimerism, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, relapse, graft-versus-host disease, prognosis, children.

**Введение.** Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) является широко используемым методом лечения онкогематологических заболеваний (ОГЗ). Однако, несмотря на постоянное совершенствование технологии проведения аллоТГСК, рецидив основного заболевания остается одной из главных проблем и наиболее частых причин смертности [1, 2].

При ОГЗ аллоТГСК обеспечивает выраженный антилейкемический эффект. Однако из-за токсичности кондиционирования, риска развития инфекционных осложнений, органной недостаточности или тяжелой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) аллоТГСК проводят, как пра-

вило, только пациентам с неблагоприятным прогнозом, в то время как пациенты с более благоприятным прогнозом проходят стандартное лечение химиотерапией. Высокий риск развития посттрансплантационных рецидивов является следствием выбора пациентов с заведомо плохим прогнозом (рефрактерных к химиотерапии, с неблагоприятными цитогенетическими или молекулярно-генетическими нарушениями) [3, 4]. Приблизительно у одной трети пациентов развивается рецидив (у 20–70 % в зависимости от типа онкогематологического заболевания и статуса заболевания на момент трансплантации) [5–7]. Выживаемость пациентов, у которых произошел рецидив, низкая (двухлетняя выживаемость 3–19 % в зависимости от времени между аллотГСК и рецидивом) [8].

Для выявления надвигающегося рецидива доступны два подхода: 1) мониторинг минимальной остаточной болезни (МОБ) [9, 10]; 2) мониторинг химеризма – соотношения клеток донора и реципиента [11, 12]. При этом мониторинг МОБ возможен только у пациентов, имеющих специфический маркер, в то время как исследование химеризма может быть выполнено у всех пациентов [11, 13, 14].

В середине 1990-х годов, когда стало понятно, что химеризм – это динамический процесс, мониторинг химеризма стали выполнять через последовательные короткие временные интервалы. Анализ химеризма позволяет определить происхождение гемопоэтических клеток после аллотГСК и оценить их приживление. Однако остается спорным вопрос, является ли химеризм также прогностическим индикатором надвигающегося рецидива. В ряде исследований показано, что увеличивающийся смешанный химеризм (СХ) – нарастание количества клеток реципиента – ассоциирован с высоким риском развития рецидива [13, 15–19]. С другой стороны, не всем исследователям удалось выявить связь химеризма с рецидивом [20–22].

В настоящее время многие проблемы остаются нерешенными: не определен оптимальный метод мониторинга химеризма у пациентов с ОГЗ, нет четких критериев для выделения пациентов группы риска рецидива и для назначения иммунотерапии в зависимости от уровня химеризма.

Цель исследования – определить динамику химеризма у пациентов с онкогематологическими заболеваниями и изучить ее влияние на исход аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (развитие рецидивов, бессобытийную выживаемость, реакцию «трансплантат против хозяина»), определить критерии для выделения пациентов группы риска развития рецидивов.

**Материалы и методы исследования.** В исследование вошли 96 пациентов с онкогематологическими заболеваниями (ОГЗ), которым с 2009 по 2016 г. было проведено 104 аллотГСК. Повторная аллотГСК осуществлена 8 лицам. Большинство пациентов (95 %) подверглись миелоаблативному кондиционированию (myeloablative conditioning, МАС), медиана возраста на момент трансплантации составила 10 (1–32) лет. В исследование не включали пациентов, у которых развился рецидив в течение первых 30 сут или наблюдалось первичное неприживление трансплантата. Информированное согласие было получено у всех пациентов и/или их официальных опекунов. Характеристика пациентов и аллотГСК приведена в табл. 1.

Определение химеризма проводилось методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) по маркерам InDel (инсерция/делеция) и STR (коротким tandemным повторам) в костном мозге (КМ) и/или периферической крови (ПК) на 30, 45, 60, 80, 100, 140, 180, 245, 365-е сутки после аллотГСК и каждые последующие полгода. При выявлении СХ исследования проводили чаще.

Для амплификации STR маркеров использовали коммерческий набор AmpFISTR® SGM Plus® PCR Amplification Kit (ABI, UK), разделение продуктов ПЦР производили с помощью капиллярного электрофореза на анализаторе 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Идентификацию аллелей осуществляли с использованием оригинального программного обеспечения GeneMapper (Applied Biosystems, США).

Для исследования методом InDel-ПЦР в реальном времени были использованы праймеры к полиморфизмам инсерция/делеция (InDel, insertion/deletion), предложенные Alizadeh и соавт. [23] и M. Koldehoff и соавт. [19], а также подобранные в нашей лаборатории к другим InDel маркерам. Первоначально донора и реципиента генотипировали по 30 аллель-специфическим маркерам. Аллели считали информативными, если они были позитивными для реципиента и негативными для донора или наоборот [24].

Таблица 1. Характеристика пациентов и аллоТГСК ( $n = 104$ ), включенных в исследование  
 Table 1. Characteristic of patients and alloH SCT ( $n = 104$ ) included into the study

Характеристика	Значение
Возраст (медиана), лет:	
реципиента	10 (1–32)
донора	28 (0–52)
Пол, муж/жен.:	
реципиента	65 (62,5 %)/39 (37,5 %)
донора	64 (61,5 %)/40 (38,5 %)
Диагноз, $n$ :	
ОМЛ	45 (43 %)
ОЛЛ	40 (38 %)
Бифенотипический ОЛ, $n$ :	3 (3 %)
МДС	7 (7 %)
НХЛ	5 (5 %)
ХМЛ	1 (1 %)
ЮММЛ	3 (3 %)
Тип донора, $n$ :	
HLA-идентичный сиблинг	24 (23,1 %)
HLA-совместимый неродственный	49 (47,1 %)
HLA-несовместимый родственный	15 (14,4 %)
HLA-несовместимый неродственный	16 (15,4 %)
Источник стволовых клеток, $n$ :	
костный мозг	66 (63 %)
периферические стволовые клетки	37 (36 %)
пуповинная кровь	1 (1 %)
Режим кондиционирования, $n$ :	
миелоаблативное кондиционирование (MAC)	99 (95 %)
на основе тотального облучения (total body irradiation, TBI)	45
на основе бисульфана/треосульфана	53
другие	1
кондиционирование сниженной интенсивности (RIC)	5 (5 %)
Применение ATG/ОКТ в кондиционировании, $n$	81 (78 %)
Клеточность трансплантата, медиана (диапазон), $\times 10^8/\text{кг}$	4,7 (0,1–35,1)
CD34+ -клеточность трансплантата, медиана (диапазон), $\times 10^6/\text{кг}$	5,7 (0,23–15,4)
CD3+ -клеточность трансплантата, медиана (диапазон), $\times 10^6/\text{кг}$	32,7 (0,008–519,5)
CD19+ -клеточность трансплантата, медиана (диапазон), $\times 10^6/\text{кг}$	10,6 (0,015–136,9)
T-клеточная деплеция, $n$	16 (15 %)
Котрансплантация МСК, $n$	12 (12 %)
Профилактика РТПХ, $n$	33 (31,7 %)
Ингибиторы кальциневрина (CNI), $n$ :	
CNI + метотрексат (MTX)	60 (57,7 %)
CNI + микофенолата мофетил (MMF)	8 (7,7 %)
Другое	3 (2,9 %)

Полный донорский химеризм (ПДХ) – уровень химеризма с количеством клеток донора >99 %, CX – уровень химеризма 5–99 %.

Статистическую обработку данных проводили с помощью R-stastics 3.2.0. Отсчет времени до клинических событий (TRM, рецидив, РТПХ) начинали от даты аллоТГСК. Показатели общей выживаемости рассчитывали по методу Kaplan-Meier [25], статистически значимые различия в уровне выживаемости – при помощи log-rank теста. Для расчета кумулятивных частот событий применяли метод конкурирующих рисков [26], статистически значимые различия определяли с помощью теста Грея [27]. Проведен мультивариантный анализ факторов, влияющих на бессобытийную выживаемость и кумулятивную частоту развития рецидивов (регрессионный анализ Кокса). Учитывали только те факторы, для которых статистическая значимость была  $p < 0,1$

в унивариантном анализе. Сравнение в группах по индивидуальным показателям, в том числе по частоте развития РТПХ в группах СХ и ПДХ, проводили с помощью точного критерия Фишера. Сравнение в парных измерениях осуществляли по критерию Wilcoxon matched-pairs test. Статистические различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение. Сравнение информативности STR-ПЦР и InDel-ПЦР.** Методом STR-ПЦР для всех пар донор/реципиент удалось выявить информативные аллели (аллели, которые есть у донора, но нет у реципиента и наоборот), т. е. метод показал 100 %-ную информативность. Методом In-Del-ПЦР информативные аллели для выявления клеток реципиента (аллели, которые есть у реципиента, но нет у донора) обнаружены у 96 (94,1 %) из 102 обследованных пар донор/реципиент.

**Динамика химеризма.** *Полный донорский химеризм* (99–100 %) во всех исследуемых точках ПК и КМ выявлялся после проведения 82 (78,8 %) из 104 аллоТГСК. Методом STR-ПЦР во всех 82 случаях установлен 100 %-ный химеризм. Выявленный с помощью метода InDel-ПЦР химеризм в 76 случаях (в 6 не было информативных аллелей) составил от 99 до 100 %. При более детальном анализе динамики химеризма, исследованного методом InDel-ПЦР, после проведения 61 (58,7 %) аллоТГСК достигнут высокий уровень донорского химеризма (99,7–100 %) во всех исследуемых точках КМ и ПК, однако после 6 из них развился рецидив. После 12 (11,5 %) аллоТГСК донорский химеризм колебался от 99,4 до 100 %, ни у одного пациента не развился рецидив. У 3 пациентов с ПДХ наблюдалось снижение химеризма до 99,3–99 %. У одного из них, пациента с ювенильным миеломоноцитарным лейкозом (ЮММЛ), уровень химеризма в КМ снизился с 99,9 % (на 30-е сутки) до 99,3 % (на 47-е сутки), и ему, учитывая сохраняющийся низкий уровень лейкоцитов, зависимость от стимуляции гемопоэза, снижение уровня донорского химеризма и повышение МОБ, проведена дополнительная инфузия КМ от того же донора, после чего химеризм повысился до 99,6–100 % в последующих точках. У второго пациента с ОМЛ в течение первого года химеризм составлял 99,88–99,97 %, а за последующие 4 года он постепенно снизился до 99 %, при этом МОБ не выявлялась после аллоТГСК. У третьего пациента с ОЛЛ химеризм в ПК снизился с 99,81 до 99,11 % за 30 сут, а через месяц у пациента развился рецидив.

*Уменьшающийся СХ* отмечался после проведения 6 (5,8 %) аллоТГСК. На 30-е сутки уровень химеризма составил 94,69–98,97 %, затем количество клеток донора нарастало, у всех пациентов к 45–100-м суткам отмечался ПДХ и ни у кого из них не развился рецидив.

*Увеличивающийся СХ* развился после выполнения 16 (15,4 %) аллоТГСК. У 9 пациентов был ПДХ с последующим нарастанием клеток реципиента (конверсия ПДХ в СХ). У 5 первоначально выявлялся СХ, а затем ПДХ, однако в течение последующих 1–4 мес. произошло нарастание клеток реципиента (СХ – ПДХ – СХ). У 2 пациентов наблюдалось постепенное нарастание СХ. Трех пациентам (18,7 %) в связи с увеличивающимся СХ проведена дополнительная терапия – инфузия донорских лимфоцитов (ИДЛ). В группе с увеличивающимся СХ у 10 (62,5 %) из 16 пациентов развился рецидив, у 1 (6,3 %) зафиксировано отторжение и 2 (12,5 %) пациента умерли в результате TRM (treatment-related mortality – смертность, связанная с лечением). Таким образом, в настоящее время из всех пациентов с увеличивающимся СХ живы только те три, которым была проведена ИДЛ.

**Исход аллоТГСК и химеризм.** Медиана наблюдения за выжившими пациентами составила 3,1 (0,7–5,8) года. В унивариантный анализ влияния факторов на исход были включены возраст, пол донора и реципиента, предтрансплантационный уровень лейкоцитов, совместимость по полу и HLA, клеточность трансплантата, источник стволовых клеток, Т-деплеция, котрансплантация мезенхимальных стволовых клеток (МСК), режим кондиционирования, профилактика РТПХ, диагноз и химеризм. Наиболее прогностически неблагоприятной группой были пациенты с уменьшающимся СХ. Бессобытийная выживаемость (event free survival, EFS) в группе с ПДХ, уменьшающимся СХ и увеличивающимся СХ составила  $68,1 \pm 6,4$ ;  $60,0 \pm 21,9$  и  $0$  % соответственно ( $p < 0,0001$ ) (рис. 1). Кумулятивная частота (cumulative incidence, CI) развития рецидивов –  $10,8 \pm 4,6$ ;  $0$  и  $81,3 \pm 10,8$  % соответственно ( $p < 0,0001$ ) (рис. 2). Нами не выявлено связи химеризма с TRM. Показатели частоты TRM у пациентов этих групп статически значимо не различались –  $16,9 \pm 4,6$ ;  $40,0 \pm 25,0$  и  $16,8 \pm 10,8$  % соответственно ( $p = 0,52$ ). Во многих других исследованиях также было показано, что динамика химеризма не влияет на TRM, которая в большинстве случаев обусловлена токсичностью лечения и инфекционными осложнениями [13, 20, 28–31].

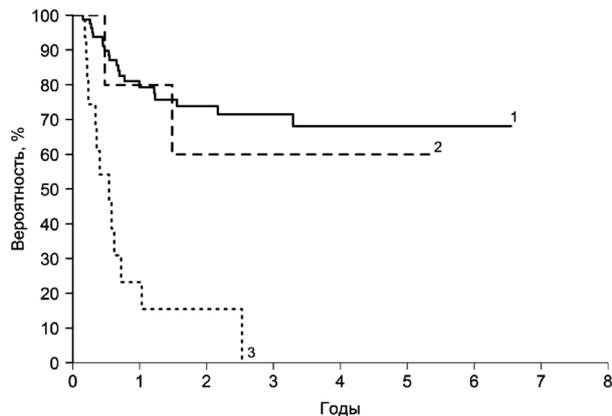


Рис. 1. Бессобытийная выживаемость пациентов с онкогематологическими заболеваниями после аллотГСК в зависимости от динамики химеризма: 1 – полный донорский химеризм, 2 – уменьшающийся смешанный химеризм, 3 – увеличивающийся смешанный химеризм

Fig. 1. Event-free survival of patients with hematological malignancies after alloHSCT depending on the chimerism dynamics: 1 – full donor chimerism, 2 – decreasing mixed chimerism, 3 – increasing mixed chimerism

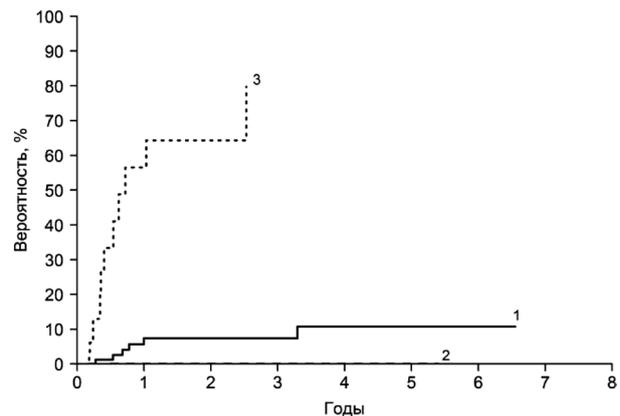


Рис. 2. Кумулятивная частота развития рецидивов у пациентов с онкогематологическими заболеваниями после аллотГСК в зависимости от динамики химеризма: 1 – полный донорский химеризм, 2 – уменьшающийся смешанный химеризм, 3 – увеличивающийся смешанный химеризм

Fig. 2. Cumulative incidence of relapse of patients with hematological malignancies after alloHSCT depending on the chimerism dynamics: 1 – full donor chimerism, 2 – decreasing mixed chimerism, 3 – increasing mixed chimerism

Исходы у пациентов с ПДХ и уменьшающимся СХ, которые достигли ПДХ, не отличались, поэтому при дальнейшем анализе эти группы были объединены. При мультивариантном анализе факторами, ассоциированными с неблагоприятной EFS, были увеличивающийся СХ (соотношение рисков – Hazard ratio, HR 6,9,  $p < 0,0001$ ), использование периферических стволовых клеток (ПСК) в качестве источника стволовых клеток (HR 3,2,  $p = 0,019$ ), HLA-несовместимость (HR 2,78,  $p = 0,051$ ) и несовместимость по полу (HR 2,1,  $p = 0,017$ ) при трансплантации ГСК реципиенту-женщине от донора-мужчины, для ряда других факторов наблюдалась только тенденция (табл. 2).

При мультивариантном анализе фактором, ассоциированным с развитием рецидивов, был только увеличивающийся СХ (HR 12,2,  $p < 0,0001$ ) (табл. 3).

Таким образом, динамика химеризма позволяет предсказать развитие рецидива. В нашем исследовании химеризм был самым прогностически ценным фактором среди других проанализированных показателей. Выявление у пациентов увеличивающегося СХ, согласно статистической

Т а б л и ц а 2. Мультифакторный анализ влияния факторов на бессобытийную выживаемость

Table 2. Multifactor analysis of the factor influence on the event-free survival

Показатель	HR	95 % доверительный интервал, HR	<i>p</i>
Химеризм (увеличивающийся СХ vs ПДХ и уменьшающийся СХ)	6,94	2,85–16,92	<b>&lt;0,0001</b>
Источник стволовых клеток (ПСК vs КМ)	3,24	1,21–8,68	<b>0,0194</b>
HLA-совместимость (нет vs да)	2,78	0,10–7,78	<b>0,051</b>
Совместимость по полу (донор жен., реципиент муж. vs донор муж., реципиент жен. vs совместимая)	2,08	1,14–3,78	<b>0,017</b>
Возраст донора (>30 vs ≤30), лет	1,91	0,86–4,28	0,11
Профилактика РТПХ (другое vs CNI + MMF vs CNI + MTX vs CNI)	0,94	0,51–1,74	0,84
Клеточность трансплантата (>10 vs 2,5–10 vs 0–2,5), ×10 <sup>8</sup> /кг	0,89	0,36–2,19	0,80
ТВ1 в режиме кондиционирования (да vs нет)	0,73	0,30–1,8	0,50
Пол реципиента (жен. vs муж.)	0,72	0,24–2,21	0,57
Лейкоциты до кондиционирования, 7-е сутки до аллотГСК (>2,7 vs ≤2,7)	0,48	0,21–1,08	<b>0,076</b>
T-деплеция (да vs нет)	0,30	0,08–1,14	<b>0,077</b>

Примечание. Статистическая значимость модели  $p < 0,0001$ .

Т а б л и ц а 3. Мультифакторный анализ влияния факторов на кумулятивную частоту рецидивов

Table 3. Multifactor analysis of the factor influence on the cumulative incidence of relapse

Показатель	HR	95 % доверительный интервал, HR	<i>p</i>
Химеризм (увеличивающийся СХ vs ПДХ и уменьшающийся СХ)	12,15	3,72–39,65	<0,0001
CD34+ клеточность трансплантата (>5,7 vs ≤5,7), ×10 <sup>8</sup> /кг	1,55	0,50–4,82	0,44
Пол реципиента (жен. vs муж.)	1,12	0,39–3,20	0,84
ГВИ в режиме кондиционирования (да vs нет)	0,37	0,11–1,32	0,13

модели, повышало риск развития рецидивов в 12 раз по сравнению с аналогичным показателем у пациентов с ПДХ и уменьшающимся СХ. В ряде предыдущих исследований также показано, что увеличивающийся СХ являлся предиктором развития рецидивов у пациентов с различными ОГЗ [13, 15–19].

Проведенный нами уни- и мультивариантный анализ отдельно для пациентов с ОЛЛ и ОМЛ показал, что динамика химеризма оставалась наиболее ценным прогностическим маркером развития рецидива в обеих группах. При ОМЛ бессобытийная выживаемость в группе пациентов с увеличивающимся СХ составила 0 %, а с ПДХ и уменьшающимся СХ – 63,5 ± 9,6 % ( $p < 0,0001$ ), кумулятивная частота развития рецидивов – 86,8 ± 34,7 и 14,8 ± 7,1 % соответственно ( $p < 0,0001$ ) (рис. 3).

В 2004 г. Bader и соавт. [15], обследовав 81 ребенка с ОМЛ (метод STR-ПЦР), показали, что уровень рецидивов у пациентов с увеличивающимся СХ (<95 % клеток донора), несмотря на превентивную иммунотерапию, был выше, чем у пациентов с ПДХ, низким уровнем СХ или уменьшающимся СХ ( $p < 0,005$ ): трехлетняя бессобытийная выживаемость составила около 60 % для пациентов с полным донорским и уменьшающимся СХ и менее 30 % для пациентов с увеличивающимся СХ. Сходные результаты получил Zeiser и соавт. в 2005 г. [18] при исследовании методом STR-ПЦР химеризма в общей популяции и в CD34+ и CD3+ клетках у 168 пациентов с ОМЛ и МДС после MAC: уровень рецидивов был 89 % у пациентов с СХ (<95 % клеток донора) по сравнению с 6 % у пациентов с ПДХ. Они также наблюдали развитие рецидивов у пациентов с увеличивающимся СХ, несмотря на применение ИДЛ (54 %) или отмену иммуносупрессии (24 %). В исследовании Huisman и соавт. в 2007 г. [32] уровень химеризма мониторировался с помощью STR-ПЦР в Т- и не Т-субпопуляции у 96 взрослых пациентов с ОМЛ. Увеличивающийся СХ/стабильный СХ (<95 %) в течение первых 6 мес. после трансплантации был ассоциирован с большим риском рецидивов по сравнению с ПДХ или уменьшающимся СХ (83 % vs 31 %,  $p < 0,001$ ). В исследовании Wiedemann и соавт. [33] у 75 пациентов с ОМЛ (взрослые и дети, RIC и MAC) при стабильном химеризме и уменьшающемся СХ была лучше двухлетняя безрецидивная выживаемость, чем у пациентов с увеличивающимся СХ (<99 % клеток донора) (85 % vs 0 %;  $p < 0,001$ ). Rettinger и соавт. [17], обследовав 71 ребенка с ОМЛ, показали, что, несмотря на применение ИДЛ у пациентов со смешанным химеризмом (<99 % клеток донора), риск возникновения рецидива после аллотГСК достоверно выше, чем у пациентов с полным донорским химеризмом (EFS 30 % vs 80 %). Особенно неблагоприятный исход отмечался у пациентов с СХ без терапии (EFS составила 0 % по сравнению с 46 % у тех, кто получил терапию).

При ОЛЛ бессобытийная выживаемость в нашем исследовании в группе пациентов с увеличивающимся СХ составила 20,0 ± 17,4 %, а у лиц с ПДХ и уменьшающимся СХ – 80,3 ± 8,4 % ( $p < 0,0001$ ), кумулятивная частота развития рецидивов – 67,5 ± 25,1 и 6,2 ± 6,2 % соответственно ( $p < 0,0001$ ) (рис. 4).

По результатам других исследований, у пациентов с ОЛЛ быстрое нарастание СХ было связано с очень высоким риском развития рецидива после аллотГСК. Bader и соавт. [16] в мультицентровом исследовании, включавшем 163 ребенка с ОЛЛ, выявили, что у пациентов с увеличивающимся СХ рецидивы развиваются значительно чаще: трехлетняя бессобытийная выживаемость у пациентов с ПДХ/низким уровнем СХ составила 66 %, у пациентов с уменьшающимся СХ – 66 %, у пациентов с увеличивающимся СХ – только 23 %, несмотря на то что часть из них получила дополнительную иммунотерапию ( $p < 0,001$ ). Terwey и соавт. [13] показали, что у взрослых пациентов ( $n = 101$ ) с ОЛЛ после MAC кумулятивная частота рецидивов значительно выше

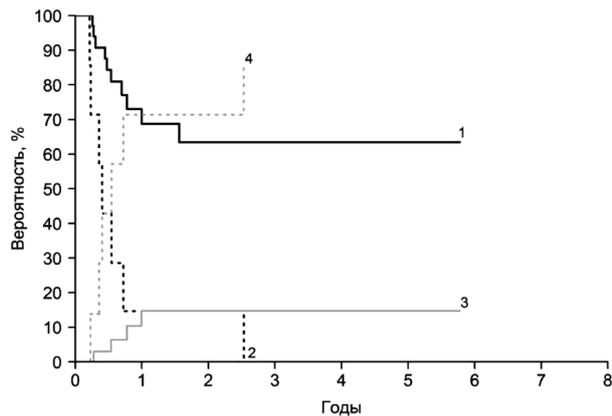


Рис. 3. Бессобытийная выживаемость и кумулятивная частота развития рецидивов в зависимости от динамики химеризма после аллоТГСК у пациентов с острым миелоидным лейкозом: 1 – бессобытийная выживаемость при полном донорском химеризме/уменьшающемся смешанном химеризме; 2 – бессобытийная выживаемость при увеличивающемся смешанном химеризме; 3 – кумулятивная частота развития рецидивов при полном донорском химеризме/уменьшающемся смешанном химеризме; 4 – кумулятивная частота развития рецидивов при увеличивающемся смешанном химеризме

Fig. 3. Event-free survival and the cumulative incidence of relapse depending on the chimerism dynamics after alloHSCT in patients with acute myeloid leukemia: 1 – event-free survival at full donor chimerism / decreasing mixed chimerism; 2 – event-free survival at increasing mixed chimerism; 3 – cumulative incidence of relapse at full donor chimerism / decreasing mixed chimerism; 4 – cumulative incidence of relapse at increasing mixed chimerism

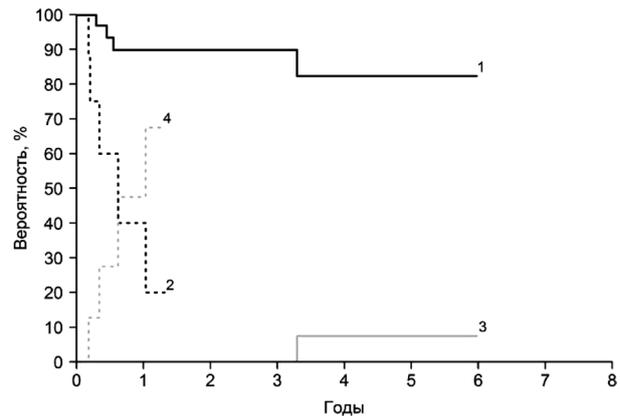


Рис. 4. Бессобытийная выживаемость и кумулятивная частота развития рецидивов в зависимости от динамики химеризма после аллоТГСК у пациентов с острым лимфобластным лейкозом: 1 – бессобытийная выживаемость при полном донорском химеризме/уменьшающемся смешанном химеризме; 2 – бессобытийная выживаемость при увеличивающемся смешанном химеризме; 3 – кумулятивная частота развития рецидивов при полном донорском химеризме/уменьшающемся смешанном химеризме; 4 – кумулятивная частота развития рецидивов при увеличивающемся смешанном химеризме

Fig. 4. Event-free survival and the cumulative incidence of relapse depending on the chimerism dynamics after alloHSCT in patients with acute lymphocytic leukemia: 1 – event-free survival at full donor chimerism / decreasing mixed chimerism; 2 – event-free survival at increasing mixed chimerism; 3 – cumulative incidence of relapse at full donor chimerism / decreasing mixed chimerism; 4 – cumulative incidence of relapse at increasing mixed chimerism

при увеличивающемся СХ (<95 % донорских клеток) по сравнению с ПДХ, низким уровнем СХ (>95 % донорских клеток) и уменьшающемся СХ.

**Изменение уровня химеризма перед рецидивом.** После МАС у подавляющего большинства пациентов, достигших ремиссии, уровень химеризма сохранялся на определенном уровне (99,4–100 % донорских клеток), а при выявлении более 1 % клеток реципиента возникал риск развития рецидива. Нам удалось зарегистрировать изменение химеризма перед рецидивом в 10 из 16 случаев. У 9 пациентов, достигших ПДХ (>99,57 %), снижение химеризма до 22,19–98,21 % (медиана 97,5 %) выявлено непосредственно перед рецидивом. У десятого пациента СХ (98 %), выявленный сразу, снизился перед рецидивом до 80 %. У некоторых пациентов не наблюдалось постепенного, длительного нарастания уровня химеризма, возможно, из-за того, что анализ химеризма проводился 1–2 раза в месяц в первые 100 дней (в последующие дни еще реже) или рецидив развивался достаточно быстро. Следует отметить, что любая конверсия ПДХ в СХ, даже снижение химеризма на 1 %, может свидетельствовать о росте опухолевого клона и/или снижении аллореактивности, т. е. эффекта «трансплантат против лейкоза». По литературным данным, увеличение клеток реципиента на 5–15 % является фактором риска рецидива [15, 16, 18], в нашем же исследовании такой значительный рост СХ отмечался только в 5 (31,3 %) случаях перед рецидивом.

Клиническое значение очень низкого уровня СХ (от 99 до 99,5 %, т. е. от 1 до 0,5 % клеток реципиента) после ПДХ остается не до конца выясненной из-за малой частоты данного события – наличие 0,88–1 % клеток реципиента зарегистрировано только у 3 пациентов. У одного из них нарастание клеток реципиента от 0,03 до 1 % за 4 года не привело к развитию рецидива, у второго нарастание клеток реципиента от 0,19 до 0,88 % за месяц предшествовало развитию рецидива (других точек исследования химеризма перед рецидивом не было), у третьего увеличение клеток реципиента от 0,43 до 0,94 % было ранним предвестником больших изменений – значительного нарастания клеток реципиента (до 11 %) и развития рецидива. По результатам наших наблюдений

можно сделать вывод, что снижение донорского химеризма до 99,4–99,0 % также может быть первым признаком надвигающегося рецидива, однако следует учитывать скорость нарастания СХ.

**Время между развитием рецидива и изменением уровня химеризма.** Увеличение клеток реципиента выявлено за 2–435 (медиана 23,5) сут до гематологического рецидива в 10 (62,5 %) из 16 случаев. Несмотря на более частый мониторинг в ПК, снижение химеризма чаще и раньше выявлялось в КМ. При сравнении 6 парных случаев (при одновременном мониторинге в КМ и ПК) у всех 6 пациентов выявлялся увеличивающийся СХ в КМ за 7–435 (медиана 64) сут, а в ПК – только у 3 (50 %) пациентов за 28–63 сут ( $p = 0,0625$ ). Эти наблюдения согласуются с тем, что при ОЛ бласты могут не выходить в ПК и в разгар гематологического рецидива химеризм в ПК может быть полностью донорским, что наблюдалось нами у одного пациента. Поэтому при выявлении изменения химеризма в ПК можно рекомендовать проведение обязательного исследования КМ и более частый мониторинг химеризма.

В единичных исследованиях проводился сравнительный анализ динамики химеризма в ПК по отношению к КМ. В исследовании Terwey и соавт. [13] определение химеризма в КМ взрослых пациентов с ОЛЛ позволило выявить риск рецидива на 2–3 мес. ранее, чем в ПК, и было более чувствительным (79 % vs 55 %,  $p = 0,06$ ), но менее специфичным (70 % vs 87 %,  $p = 0,012$ ). Возможное объяснение более низкой специфичности в КМ – это контаминация нормальными стромальными клетками, которые могут оставаться полностью клетками реципиента после аллотГСК. Как правило, химеризм в КМ ниже, чем в ПК [34], и количество бластов при рецидиве в КМ в несколько раз выше, чем в ПК [35]. В некоторых случаях незрелые клетки могут не выходить из КМ в ПК и определение химеризма в КМ увеличивает вероятность выявления рецидива. Таким образом, исследование химеризма в КМ при ОЛЛ, ОМЛ и МДС гораздо чувствительнее, чем в ПК, однако взятие образцов КМ сопряжено с определенными трудностями (болезненность процедуры, инвазивность и др.), а забор ПК может осуществляться более часто. В идеале необходимо использовать два источника материала для мониторинга химеризма, что позволит с большей вероятностью определить угрозу развития рецидива.

Следует отметить, что у отдельных пациентов увеличение СХ может не наблюдаться, а у других выявляться как за несколько дней, так и за много месяцев до гематологического рецидива. Это может объясняться тем, что специфичность и чувствительность исследования химеризма в отношении выявления риска развития рецидива могут зависеть как от биологических свойств самой опухоли (индолентное или агрессивное течение) и локализации рецидива, так и от интервала между исследованиями.

**Сравнение STR-ПЦР и InDel-ПЦР.** Чувствительность метода InDel-ПЦР значительно выше, чем STR-ПЦР: в нашем исследовании 0,01 и 1–5 % клеток реципиента соответственно [24]. InDel-ПЦР выявил 10 (62,5 %) из 16 рецидивов, а STR-ПЦР – только 8 (50 %) из 16, при этом время до развития рецидива составило 2–435 (медиана 23,5) и 4–435 (медиана 7) сут соответственно ( $p = 0,0625$ ). Использование более чувствительного метода позволило выявить рецидивы раньше и у большего количества пациентов.

По данным ряда исследователей, нарастание СХ связано с последующим развитием рецидива, а степень взаимосвязи между ними зависит от чувствительности метода. Willasch и соавт. [36] сообщили, что в большинстве случаев СХ у пациентов с МДС выявлялся раньше (медиана 31 сут) с помощью ПЦР в реальном времени, чем при применении STR-ПЦР. Horquy и соавт. [35] выявили, что использование при ОМЛ метода InDel-ПЦР позволяет предсказать большее количество гематологических рецидивов (87 % vs 39 %) с медианой 33 сут до рецидива, что на 26 сут раньше, чем при применении обычной STR-ПЦР ( $p = 0,0002$ ). Koldehoff и соавт. [19] сравнили результаты анализа химеризма методом ПЦР в реальном времени с полученным классическим методом STR-PCR у 135 пациентов после аллотГСК. Во всех 26 % дисконкордантных случаях метод InDel-ПЦР выявил СХ, в то время как STR-метод обнаружил ПДХ. Таким образом, InDel-ПЦР метод позволял определить СХ до возникновения рецидива значительно раньше, чем STR-PCR (120 сут vs 30 сут,  $p < 0,007$ ). Согласно Jiménez-Velasco и соавт. [34], по сравнению с обычной STR-ПЦР метод ПЦР в реальном времени предсказывал значительно большее количество рецидивов (88 % vs 44 %) у пациентов с ОЛ ( $n = 61$ ).

Однако следует помнить, что низкий уровень СХ (иногда называемый микрохимеризм) может сохраняться довольно продолжительное время [34], особенно в КМ, поэтому необходимо учитывать динамику и исследовать пороговые значения. Применение более чувствительных методов, таких как InDel-ПЦР, ассоциировано с продолжительным периодом детектируемого низкого уровня СХ (>99 %) после аллотГГСК.

Исследование ПЦР в реальном времени позволило Qin и соавт. [37] определить пороговое значение 1 % клеток реципиента как оптимальное для предсказания рецидивов с чувствительностью 100 % и специфичностью 79,6 %. У 129 пациентов с ОЛ, получивших МАС, уровень рецидивов при химеризме <99 % был 55 %, а у пациентов с химеризмом >99 % – 0 %. В работе Wiedemann и соавт. [33] исследование динамики химеризма у 75 пациентов с ОМЛ позволило предсказать надвигающиеся рецидивы в 17 (94 %) из 18 случаев при пороговом значении для увеличивающегося химеризма 99 %. Кроме того, динамика СХ очень хорошо согласовывалась с мониторингом МОБ. Большинство исследователей, которые использовали InDel-ПЦР, сходятся на оптимальном пороговом уровне клеток реципиента – 1 % [33, 37].

В то же время влияние низкого уровня СХ после аллотГГСК остается спорным. В некоторых исследованиях низкий уровень СХ (>95 %) не имел никакого прогностического значения по сравнению с ПДХ у детей и взрослых с ОЛ [13, 16, 38]. Стабильный СХ на низком уровне был совместим с длительной бессобытийной выживаемостью. Возникает вопрос, действительно ли методы оценки химеризма с чувствительностью ниже 1–5 % имеют большее прогностическое значение в клиническом приложении. Однако в этих исследованиях использовался метод на основе STR с чувствительностью 1–5 %, который не позволяет четко разграничить пациентов с низким уровнем СХ и ПДХ и определить точную динамику процесса, т. е. конверсию ПДХ в СХ, что, с одной стороны, может нивелировать различие между этими группами, а с другой – не позволяет определить динамику в группе с низким уровнем СХ (увеличение или уменьшение аутологичного сигнала в пределах 1–5 %). Кроме того, в некоторых исследованиях применяли иммунотерапию [13], что может приводить к конверсии СХ в ПДХ.

Недостатками ПЦР в реальном времени, которые лимитируют распространение этого метода, является то, что он позволяет дискриминировать только около 90 % пар донор/реципиент, а также обладает меньшей точностью определения с коэффициентом вариации 30–50 %. Однако это не оказывает существенного влияния на анализ при низком уровне СХ и позволяет раньше выявлять надвигающийся рецидив, устанавливать более низкие пороговые значения (1 %) для оперативного вмешательства с учетом динамики химеризма. Несмотря на то что STR-ПЦР применим ко всем парам донор/реципиент с коэффициентом вариации около 5–15 % [24], он обладает недостаточной чувствительностью.

**Химеризм при рецидиве и причины неудачи выявления рецидивов.** Рецидив развился после 16 аллотГГСК. В 6 (37,5 %) из 16 случаев нам не удалось предсказать развитие рецидивов после аллотГГСК с помощью контроля химеризма.

*Изолированный костномозговой рецидив* развился у 10 пациентов. На момент рецидива химеризм составил 8,7–72,1 % в КМ и 20,0–99,9 % в ПК. Следует отметить, что у 2 (25 %) из 8 пациентов, для которых был доступен материал ПК на момент рецидива, выявлялся ПДХ, что еще раз подчеркивает необходимость обязательного мониторинга химеризма в КМ. Снижение химеризма перед рецидивом наблюдалось у 7 (70 %) из 10 пациентов. Причинами неудачи предсказания рецидивов у 3 пациентов мог быть длительный период (более 3 мес.) между последней точкой мониторинга химеризма в КМ и рецидивом.

*Комбинированный рецидив* развился у 4 пациентов. На момент рецидива химеризм в КМ составил 27,9–97,3 %, что может быть связано с разной степенью поражения КМ. Химеризм в ПК был ниже 60 % (материал ПК был доступен только для двоих пациентов). Снижение химеризма перед рецидивом отмечалось у 2 (50 %) из 4 пациентов. Причинами неудачного прогноза рецидива с помощью химеризма могли быть длительный период между последней точкой мониторинга и рецидивом (2 мес.) у одного пациента и преимущественное поражение ЦНС у другого (первые признаки надвигающегося рецидива выявлены в ЦНС, а на момент рецидива в КМ методом FISH обнаружено только 7 % опухолевых клеток с перестройкой гена *MLL*).

*Изолированный экстрамедуллярный рецидив (ЭМР)* диагностирован у 2 пациентов. У первого пациента, у которого отмечалось изменение химеризма до рецидива, на момент рецидива был ПДХ в ПК и СХ (98,5 %) – в КМ. У второго пациента на момент рецидива химеризм был ПДХ (99,1 %) в КМ (в ПК материала не было). Снижение химеризма перед рецидивом отмечалось только у 1 из 2 пациентов.

Основными причинами неудачного прогноза рецидивов были длительный период между последней точкой мониторинга в КМ и наличие экстрамедуллярного поражения. По данным литературы, после трансплантации приблизительно у 2,4–13 % пациентов наблюдается развитие рецидивов с внекостномозговым поражением [6, 39]. В ряде исследований также не удалось определить изменение уровня химеризма в КМ и ПК как до, так и во время ЭМР [18, 35, 40], что вполне объяснимо отсутствием бластов в КМ и ПК. *Nguyen* и соавт. [35] показали, что даже использование очень чувствительного метода InDel-ПЦР для мониторинга химеризма не всегда позволяет выявить ЭМР.

**Реакция «трансплантат против хозяина».** Связь химеризма с РТПХ весьма противоречива: в некоторых исследованиях она показана [20, 21, 28, 30], в других такой взаимосвязи не найдено [29, 31]. В нашем исследовании у пациентов с ПДХ острая РТПХ I–IV стадии развилась у 43 (52,4 %, у 2 из них после ИДЛ) из 82 пациентов и хроническая РТПХ у 31 (44,3 %, у 1 после ИДЛ) из 70. У пациентов с уменьшающимся СХ острая РТПХ была у 1 (16,7 %) из 6, хронической РТПХ ни у кого не выявлено. У пациентов с увеличивающимся СХ острая РТПХ была у 1 (6,3 %, у 2 после ИДЛ) из 16, хроническая РТПХ у 3 (50 %) из 6. Таким образом, у пациентов, у которых был установлен ПДХ, развитие острой РТПХ наблюдалось чаще, чем у пациентов с СХ ( $p = 0,0004$ , без учета пациентов с ИДЛ).

Более редкое развитие острой РТПХ у пациентов с СХ по сравнению с лицами с ПДХ, так же как и более частое развитие рецидивов, может быть связано с недостаточной аллореактивностью и с развитием толерантности у пациентов с СХ. Считается, что развитие РТПХ сопряжено с развитием РТПХ и снижением частоты развития рецидивов [1]. В нашем исследовании также наблюдалась эта закономерность. У пациентов, у которых в последующем развился рецидив, острая РТПХ развилась после 2 (12,5 %) из 16 аллоТГСК: у одного был изолированный ЭМР, у другого – поздний костномозговой рецидив после 3,5 года с момента трансплантации. У пациентов без рецидивов частота развития острой РТПХ составила 47,7 % (после 42 из 88 аллоТГСК) ( $p = 0,011$ ).

Связь ПДХ, РТПХ и отсутствие рецидивов скорее отражают один биологический процесс и свидетельствуют о наличии аллореактивности у иммунных клеток донора: большей агрессивности клеток донора по отношению к клеткам хозяина (РТПХ), что и приводит к большей экспансии клеток донора (ПДХ) и подавлению лейкозного клона (ремиссия). В свою очередь СХ предполагает наличие толерантности, которая, с одной стороны, защищает от развития РТПХ, а с другой – не препятствует пролиферации опухолевого клона. Это позволяет сделать вывод, что у пациентов без РТПХ необходимо чаще исследовать химеризм, и наоборот – у пациентов с РТПХ можно реже проводить такой мониторинг.

**Заключение.** После миелоаблативного кондиционирования у подавляющего большинства пациентов с онкогематологическими заболеваниями, достигших ремиссии, уровень химеризма сохраняется на высоком уровне – 99,4–100 % донорских клеток. Увеличивающийся СХ (конверсия ПДХ в СХ менее 99 % или нарастание СХ) является неблагоприятным фактором прогноза для бессобытийной выживаемости ( $HR = 6,9, p < 0,0001$ ) и ассоциирован с высоким риском развития рецидива ( $HR = 12,2, p < 0,0001$ ) после аллоТГСК. Увеличение количества клеток реципиента выявлялось за 2–435 (медиана 23,5) сут до гематологического рецидива в 10 (62,5 %) из 16 случаев. Снижение химеризма чаще и раньше выявлялось в КМ, чем в ПК ( $p = 0,06$ ). В разгар гематологического рецидива химеризм в ПК может быть полностью донорским. Основными причинами неудачного прогнозирования рецидивов были длительный период между последней точкой мониторинга в КМ и наличие экстрамедуллярного очага.

Использование более чувствительного метода для мониторинга химеризма, такого как InDel-ПЦР в реальном времени, позволяет выявлять рецидивы раньше и у большего количества пациентов, чем при применении STR-ПЦР ( $p = 0,06$ ).

У пациентов, у которых установлен ПДХ, развитие РТПХ наблюдалось чаще, чем у пациентов с СХ ( $p = 0,0004$ ).

Учитывая полученные результаты и данные литературы, необходимо дальнейшее изучение химеризма после трансплантации, в том числе в отдельных клеточных субпопуляциях, его взаимосвязи с минимальной остаточной болезнью для более эффективного прогнозирования развития рецидива, понимания биологических основ взаимодействия клеток донора и реципиента и улучшения выживаемости пациентов после аллотГСК.

### Благодарность

Исследование выполнено в рамках проекта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований № M16P-126 (2016–2018 гг.)

### Acknowledgement

The study was made within the framework of the Project (No. M16P-126 during 2016–2018) of the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research.

### Список использованных источников

1. Barrett, A. J. Relapse after allogeneic stem cell transplantation / A. J. Barrett, M. Battiwalla // *Expert Rev. of Hematol.* – 2010. – Vol. 3, iss. 4. – P. 429–441. doi: 10.1586/ehm.10.32.
2. D'Souza, A. Current Uses and Outcomes of Hematopoietic Cell Transplantation (HCT): CIBMTR Summary Slides, 2016 [Electronic resource] / A. D'Souza, X. Zhu // CIBMTR. – Mode of access: <http://www.cibmtr.org>. – Date of access: 05.04.2017.
3. NCI First International Workshop on the Biology, Prevention, and Treatment of Relapse after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Report from the Committee on Treatment of Relapse after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation / D. L. Porter [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* – 2010. – Vol. 16, iss. 11. – P. 1467–1503. – Doi: 10.1016/j.bbmt.2010.08.001.
4. LaBelle, J. L. Stem cell transplant as an immunomodulatory tool for children with hematologic malignancies / J. L. LaBelle, J. M. Cunningham // *American Society of Clinical Oncology Educational Book.* – 2013. – P. 347–352. – Doi: 10.1200/EdBook\_AM.2013.33.e347.
5. Outcome and prognostic factors for patients who relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / G. Thanarajasingam [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* – 2013. – Vol. 19, iss. 12. – P. 1713–1718. – Doi: 10.1016/j.bbmt.2013.09.011.
6. Extramedullary relapse of acute leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: different characteristics between acute myelogenous leukemia and acute lymphoblastic leukemia / L. Ge [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* – 2014. – Vol. 20, iss. 7. – P. 1040–1047. – Doi: 10.1016/j.bbmt.2014.03.030.
7. Management of relapse after allo-SCT for AML and the role of second transplantation / B. N. Savani [et al.] // *Bone Marrow Transplantation.* – 2009. – Vol. 44, iss. 12. – P. 769–777. – Doi: 10.1038/bmt.2009.300.
8. Outcomes among patients with recurrent high-risk hematologic malignancies after allogeneic hematopoietic cell transplantation / M. Mielcarek [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* – 2007. – Vol. 13, iss. 10. – P. 1160–1168. – Doi: 10.1016/j.bbmt.2007.06.007.
9. Kröger, N. Minimal residual disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / N. Kröger, K. Miyamura, M. R. Bishop // *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* – 2011. – Vol. 20, iss. 1. – P. S94–S100. – Doi: 10.1016/j.bbmt.2010.10.031.
10. POGO MRD Working Group. Minimal Residual Disease and Childhood Leukemia: Standard of Care Recommendations From the Pediatric Oncology Group of Ontario MRD Working Group / U. H. Athale [et al.] // *Pediatric Blood & Cancer.* – 2016. – Vol. 63, iss. 6. – P. 973–982. – Doi: 10.1002/pbc.25939.
11. Minimal residual disease diagnostics and chimerism in the post-transplant period in acute myeloid leukemia / U. Bacher [et al.] // *Sci. World J.* – 2011. – Vol. 11. – P. 310–319. – Doi: 10.1100/tsw.2011.16.
12. Establishment of complete and mixed donor chimerism after allogeneic lymphohematopoietic transplantation: recommendations from a workshop at the 2001 tandem meetings of the International bone marrow transplant registry and the American Society of Blood and Marrow Transplantation / J. H. Antin [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* – 2001. – Vol. 7, iss. 9. – P. 473–485. – Doi: 10.1053/bbmt.2001.v7.pm11669214.
13. Comparison of chimerism and minimal residual disease monitoring for relapse prediction after allogeneic stem cell transplantation for adult acute lymphoblastic leukemia / T. H. Terwey [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* – 2014. – Vol. 20, iss. 10. – P. 1522–1529. – Doi: 10.1016/j.bbmt.2014.05.026.
14. How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation? / P. Bader [et al.] // *Bone Marrow Transplantation.* – 2005. – Vol. 35, iss. 2. – P. 107–119. – Doi: 10.1038/sj.bmt.1704715.
15. Increasing mixed chimerism defines a high-risk group of childhood acute myelogenous leukemia patients after allogeneic stem cell transplantation where pre-emptive immunotherapy may be effective / P. Bader [et al.] // *Bone Marrow Transplantation.* – 2004. – Vol. 33, iss. 8. – P. 815–821. – Doi: 10.1038/sj.bmt.1704444.

16. Increasing mixed chimerism is an important prognostic factor for unfavorable outcome in children with acute lymphoblastic leukemia after allogeneic stem-cell transplantation: possible role for pre-emptive immunotherapy? / P. Bader [et al.] // *J. of Clin. Oncol.* – 2004. – Vol. 22, iss. 9. – P. 1696–1705. – Doi: 10.1200/JCO.2004.05.198.
17. Preemptive immunotherapy in childhood acute myeloid leukemia for patients showing evidence of mixed chimerism after allogeneic stem cell transplantation / E. Rettinger [et al.] // *Blood.* – 2011. – Vol. 118, iss. 20. – P. 5681–5688. – Doi: 10.1182/blood-2011-04-348805.
18. Evaluation of immunomodulatory treatment based on conventional and lineage-specific chimerism analysis in patients with myeloid malignancies after myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation / R. Zeiser [et al.] // *Leukemia.* – 2005. – Vol. 19, iss. 5. – P. 814–821. – Doi: 10.1038/sj.leu.2403719.
19. Quantitative analysis of chimerism after allogeneic stem cell transplantation by real-time polymerase chain reaction with single nucleotide polymorphisms, standard tandem repeats, and Y-chromosome-specific sequences / M. Koldehoff [et al.] // *Am. J. of Hematol.* – 2006. – Vol. 81, iss. 10. – P. 735–746. – Doi: 10.1002/ajh.20693.
20. Peripheral blood cells chimerism after unrelated cord blood transplantation in children: kinetics, predictive factors and impact on post-transplant outcome / E. Elkaim [et al.] // *Br. J. of Haematol.* – 2014. – Vol. 166, iss. 4. – P. 557–565. – Doi: 10.1111/bjh.12918.
21. Post-transplant T cell chimerism predicts graft versus host disease but not disease relapse in patients undergoing an alemtuzumab based reduced intensity conditioned allogeneic transplant / E. Nikolousis [et al.] // *Leukemia Res.* – 2013. – Vol. 37, iss. 5. – P. 561–565. – Doi: 10.1016/j.leukres.2013.01.010.
22. Mixed T-lymphoid chimerism after allogeneic bone marrow transplantation for hematologic malignancies of children is not correlated with relapse / J. E. van Leeuwen [et al.] // *Blood.* – 1993. – Vol. 82, iss. 6. – P. 1921–1928.
23. Quantitative assessment of hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation by real-time quantitative polymerase chain reaction / M. Alizadeh [et al.] // *Blood.* – 2002. – Vol. 99, iss. 12. – P. 4618–4625.
24. Количественный анализ химеризма после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток молекулярно-генетическими методами / В. А. Лавриненко [и др.] // *Онкогематология = Oncohematology.* – 2014. – № 2. – С. 29–36.
25. Kaplan, E. Nonparametric estimation from incomplete observations / E. Kaplan, P. Meier // *J. of the Am. Statistical Association.* – 1958. – Vol. 53, iss. 282. – P. 457–481.
26. Estimation of failure probabilities in the presence of competing risks: new representations of old estimators / T. A. Gooley [et al.] // *Statistics in Medicine.* – 1999. – Vol. 18, iss. 6. – P. 695–706.
27. Gray, R. A class of K-sample tests for comparing the cumulative incidence of a competing risk / R. Gray // *The Annals of Statistics.* – 1988. – Vol. 16, iss. 3. – P. 1140–1154.
28. Nagoya Blood and Marrow Transplantation Group. Chimerism status after unrelated donor bone marrow transplantation with fludarabine-melphalan conditioning is affected by the melphalandose and is predictive of relapse / N. Imahashi [et al.] // *Annals of Hematol.* – 2015. – Vol. 94, iss. 7. – P. 1139–1148. – Doi: 10.1007/s00277-015-2312-4.
29. Impact of T cell chimerism on clinical outcome in 117 patients who underwent allogeneic stem cell transplantation with a busulfan-containing reduced-intensity conditioning regimen / B. Saito [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* – 2008. – Vol. 14, iss. 10. – P. 1148–1155. – Doi: 10.1016/j.bbmt.2008.07.013.
30. Donor chimerism early after reduced-intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation predicts relapse and survival / J. Koreth [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* – 2014. – Vol. 20, iss. 10. – P. 1516–1521. – Doi: 10.1016/j.bbmt.2014.05.025.
31. Complete donor T cell chimerism predicts lower relapse incidence after standard double umbilical cord blood reduced-intensity conditioning regimen allogeneic transplantation in adults / P. Peterlin [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* – 2015. – Vol. 21, iss. 1. – P. 180–184. – Doi: 10.1016/j.bbmt.2014.08.018.
32. Chimerism analysis within 6 months of allogeneic stem cell transplantation predicts relapse in acute myeloid leukemia / C. Huisman [et al.] // *Bone Marrow Transplantation.* – 2007. – Vol. 39, iss. 5. – P. 285–291. – Doi: 10.1038/sj.bmt.1705582.
33. Chimerism studies with quantitative real-time PCR in stem cell recipients with acute myeloid leukemia / B. Wiedemann [et al.] // *Experim. Hematol.* – 2010. – Vol. 38, iss. 12. – P. 1261–1271. – Doi: 10.1016/j.exphem.2010.08.006.
34. Reliable quantification of hematopoietic chimerism after allogeneic transplantation for acute leukemia using amplification by real-time PCR of null alleles and insertion/deletion polymorphisms / A. Jiménez-Velasco [et al.] // *Leukemia.* – 2005. – Vol. 19, iss. 3. – P. 336–343. – Doi: 10.1038/sj.leu.2403622.
35. Increasing hematopoietic microchimerism is a reliable indicator of incipient AML relapse / O. Horky [et al.] // *Inter. J. of Lab. Hematol.* – 2011. – Vol. 33, iss. 1. – P. 57–66. – Doi: 10.1111/j.1751-553X.2010.01249.x.
36. Monitoring of hematopoietic chimerism after transplantation for pediatric myelodysplastic syndrome: real-time or conventional short tandem repeat PCR in peripheral blood or bone marrow? / A. M. Willasch [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* – 2014. – Vol. 20, iss. 12. – P. 1918–1925. – Doi: 10.1016/j.bbmt.2014.07.030.
37. Quantitative chimerism: an independent acute leukemia prognosis indicator following allogeneic hematopoietic SCT / X. Y. Qin [et al.] // *Bone Marrow Transplantation.* – 2014. – Vol. 49, iss. 10. – P. 1269–1277. – Doi: 10.1038/bmt.2014.158.
38. Chimerism status is a useful predictor of relapse after allogeneic stem cell transplantation for acute leukemia / M. Barrios [et al.] // *Haematologica.* – 2003. – Vol. 88, iss. 7. – P. 801–810.
39. Extramedullary relapse of acute leukemia after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation: incidence, risk factors, treatment, and clinical outcomes / X. D. Mo [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* – 2014. – Vol. 20, iss. 12. – P. 2023–2028. – Doi: 10.1016/j.bbmt.2014.08.023.
40. Leukemia lineage-specific chimerism analysis is a sensitive predictor of relapse in patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after allogeneic stem cell transplantation / J. Mattsson [et al.] // *Leukemia.* – 2001. – Vol. 15, iss. 12. – P. 1976–1985.

## References

1. Barrett A. J., Battiwalla M. Relapse after allogeneic stem cell transplantation. *Expert Review of Hematology*, 2010, vol. 3, no. 4, pp. 429–441. doi: 10.1586/ehm.10.32.
2. A. D'Souza, X. Zhu. Current Uses and Outcomes of Hematopoietic Cell Transplantation (HCT): CIBMTR Summary Slides, 2016. Available at: <http://www.cibmtr.org>. (Accessed 05.04.2017).
3. Porter D. L., Alyea E. P., Antin J. H., DeLima M., Estey E., Falkenburg J. H., Hardy N., Kroeger N., Leis J., Levine J., Maloney D. G., Peggs K., Rowe J. M., Wayne A. S., Giralt S., Bishop M. R., van Besien K. NCI First International Workshop on the Biology, Prevention, and Treatment of Relapse after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Report from the Committee on Treatment of Relapse after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2010, vol. 16, no. 11, pp. 1467–1503. doi: 10.1016/j.bbmt.2010.08.001.
4. LaBelle J. L., Cunningham J. M. Stem cell transplant as an immunomodulatory tool for children with hematologic malignancies. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*, 2013, pp. 347–352. doi: 10.1200/EdBook\_AM.2013.33.e347.
5. Thanarajasingam G., Kim H. T., Cutler C., Ho V. T., Koreth J., Alyea E. P., Antin J. H., Soiffer R. J., Armand P. Outcome and prognostic factors for patients who relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2013, vol. 19, no. 12, pp. 1713–1718. doi: 10.1016/j.bbmt.2013.09.011.
6. Ge L., Ye F., Mao X., Chen J., Sun A., Zhu X., Qiu H., Jin Z., Miao M., Fu C., Ma X., Chen F., Xue S., Ruan C., Wu D., Tang X. Extramedullary relapse of acute leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: different characteristics between acute myelogenous leukemia and acute lymphoblastic leukemia. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2014, vol. 20, no. 7, pp. 1040–1047. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.03.030.
7. Savani B. N., Mielke S., Reddy N., Goodman S., Jagasia M., Rezvani K. Management of relapse after allo-SCT for AML and the role of second transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 2009, vol. 44, no. 12, pp. 769–777. doi: 10.1038/bmt.2009.300.
8. Mielcarek M., Storer B. E., Flowers M. E., Storb R., Sandmaier B. M., Martin P. J. Outcomes among patients with recurrent high-risk hematologic malignancies after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2007, vol. 13, no. 10, pp. 1160–1168. doi: 10.1016/j.bbmt.2007.06.007.
9. Kröger N., Miyamura K., Bishop M. R. Minimal residual disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2011, vol. 20, no. 1, pp. S94–S100. doi: 10.1016/j.bbmt.2010.10.031.
10. Athale U. H., Gibson P. J., Bradley N. M., Malkin D. M., Hitzler J., POGO MRD Working Group. Minimal Residual Disease and Childhood Leukemia: Standard of Care Recommendations From the Pediatric Oncology Group of Ontario MRD Working Group. *Pediatric Blood & Cancer*, 2016, vol. 63, no. 6, pp. 973–982. doi: 10.1002/pbc.25939.
11. Bacher U., Haferlach T., Fehse B., Schnittger S., Kröger N. Minimal residual disease diagnostics and chimerism in the post-transplant period in acute myeloid leukemia. *Scientific World Journal*, 2011, vol. 11, pp. 310–319. doi: 10.1100/tsw.2011.16.
12. Antin J. H., Childs R., Filipovich A. H., Giralt S., Mackinnon S., Spitzer T., Weisdorf D. Establishment of complete and mixed donor chimerism after allogeneic lymphohematopoietic transplantation: recommendations from a workshop at the 2001 tandem meetings of the International bone marrow transplant registry and the American Society of Blood and Marrow Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2001, vol. 7, no. 9, pp. 473–485. doi: 10.1053/bbmt.2001.v7.pm11669214.
13. Terwey T. H., Hemmati P. G., Nagy M., Pfeifer H., Gökbüget N., Brüggemann M., Le Duc T. M., le Coutre P., Dörken B., Arnold R. Comparison of chimerism and minimal residual disease monitoring for relapse prediction after allogeneic stem cell transplantation for adult acute lymphoblastic leukemia. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2014, vol. 20, no. 10, pp. 1522–1529. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.05.026.
14. Bader P., Niethammer D., Willasch A., Kreyenberg H., Klingebiel T. How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation? *Bone Marrow Transplantation*, 2005, vol. 35, no. 2, pp. 107–119. doi: 10.1038/sj.bmt.1704715.
15. Bader P., Kreyenberg H., Hoelle W., Dueckers G., Kremens B., Dilloo D., Sykora K. W., Niemeyer C., Reinhardt D., Vormoor J., Gruhn B., Lang P., Greil J., Handgretinger R., Niethammer D., Klingebiel T., Beck J. F. Increasing mixed chimerism defines a high-risk group of childhood acute myelogenous leukemia patients after allogeneic stem cell transplantation where pre-emptive immunotherapy may be effective. *Bone Marrow Transplantation*, 2004, vol. 33, no. 8, pp. 815–821. doi: 10.1038/sj.bmt.1704444.
16. Bader P., Kreyenberg H., Hoelle W., Dueckers G., Handgretinger R., Lang P., Kremens B., Dilloo D., Sykora K. W., Schrappe M., Niemeyer C., Von Stackelberg A., Gruhn B., Henze G., Greil J., Niethammer D., Dietz K., Beck J. F., Klingebiel T. Increasing mixed chimerism is an important prognostic factor for unfavorable outcome in children with acute lymphoblastic leukemia after allogeneic stem-cell transplantation: possible role for pre-emptive immunotherapy? *Journal of Clinical Oncology*, 2004, vol. 22, no. 9, pp. 1696–1705. doi: 10.1200/JCO.2004.05.198.
17. Rettinger E., Willasch A. M., Kreyenberg H., Borkhardt A., Holter W., Kremens B., Strahm B., Woessmann W., Mauz-Koerholz C., Gruhn B., Burdach S., Albert M. H., Schlegel P. G., Klingebiel T., Bader P. Preemptive immunotherapy in childhood acute myeloid leukemia for patients showing evidence of mixed chimerism after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*, 2011, vol. 118, no. 20, pp. 5681–5688. doi: 10.1182/blood-2011-04-348805.
18. Zeiser R., Spyridonidis A., Wäsch R., Ihorst G., Grüllich C., Bertz H., Finke J. Evaluation of immunomodulatory treatment based on conventional and lineage-specific chimerism analysis in patients with myeloid malignancies after myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Leukemia*, 2005, vol. 19, no. 5, pp. 814–821. doi: 10.1038/sj.leu.2403719.
19. Koldehoff M., Steckel N. K., Hlinka M., Beelen D. W., Elmaagacli A. H. Quantitative analysis of chimerism after allogeneic stem cell transplantation by real-time polymerase chain reaction with single nucleotide polymorphisms, standard tandem repeats, and Y-chromosome-specific sequences. *American Journal of Hematology*, 2006, vol. 81, no. 10, pp. 735–746. doi: 10.1002/ajh.20693.

20. Elkaim E., Picard C., Galambrun C., Barlogis V., Loundou A., Curtillet C., Oudin C., Thuret I., Chambost H., Michel G. Peripheral blood cells chimerism after unrelated cord blood transplantation in children: kinetics, predictive factors and impact on post-transplant outcome. *British Journal of Haematology*, 2014, vol. 166, no. 4, pp. 557–565. doi: 10.1111/bjh.12918.
21. Nikolousis E., Robinson S., Nagra S., Brookes C., Kinsella F., Tauro S., Jeffries S., Griffiths M., Mahendra P., Cook M., Paneesha S., Lovell R., Kishore B., Chaganti S., Malladi R., Raghavan M., Moss P., Milligan D., Craddock C. Post-transplant T cell chimerism predicts graft versus host disease but not disease relapse in patients undergoing an alemtuzumab based reduced intensity conditioned allogeneic transplant. *Leukemia Research*, 2013, vol. 37, no. 5, pp. 561–565. doi: 10.1016/j.leukres.2013.01.010.
22. Van Leeuwen J. E., van Tol M. J., Joosten A. M., Wijnen J. T., Khan P. M., Vossen J. M. Mixed T-lymphoid chimerism after allogeneic bone marrow transplantation for hematologic malignancies of children is not correlated with relapse. *Blood*, 1993, vol. 82, no. 6, pp. 1921–1928.
23. Alizadeh M., Bernard M., Danic B., Dauriac C., Birebent B., Lapart C., Lamy T., Le Prisé P. Y., Beauplet A., Bories D., Semana G., Quelvenec E. Quantitative assessment of hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation by real-time quantitative polymerase chain reaction. *Blood*, 2002, vol. 99, no. 12, pp. 4618–4625.
24. Lavrinenko V. A., Savitskaya T. V., Volochnik Ye. V., Mareiko Yu. E., Aleynikova O. V. Quantitative analysis of chimerism after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with molecular genetic methods. *Oncohematology*, 2014, no. 2, pp. 29–36. (in Russian).
25. Kaplan E., Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American Statistical Association*, 1958, vol. 53, no. 282, pp. 457–481.
26. Gooley T. A., Leisenring W., Crowley J., Storer B. E. Estimation of failure probabilities in the presence of competing risks: new representations of old estimators. *Statistics in Medicine*, 1999, vol. 18, no. 6, pp. 695–706.
27. Gray R. A class of K-sample tests for comparing the cumulative incidence of a competing risk. *The Annals of Statistics*, 1988, vol. 16, no. 3, pp. 1140–1154.
28. Imahashi N., Ohashi H., Terakura S., Miyao K., Sakemura R., Kato T., Sawa M., Yokohata E., Kurahashi S., Ozawa Y., Nishida T., Kiyoi H., Watamoto K., Kohno A., Kasai M., Kato C., Iida H., Naoe T., Miyamura K., Murata M. Nagoya Blood and Marrow Transplantation Group. Chimerism status after unrelated donor bone marrow transplantation with fludarabine-melphalan conditioning is affected by the melphalandose and is predictive of relapse. *Annals of Hematology*, 2015, vol. 94, no. 7, pp. 1139–1148. doi: 10.1007/s00277-015-2312-4.
29. Saito B., Fukuda T., Yokoyama H., Kurosawa S., Takahashi T., Fuji S., Takahashi N., Tajima K., Kim S. W., Mori S., Tanosaki R., Takaue Y., Heike Y. Impact of T cell chimerism on clinical outcome in 117 patients who underwent allogeneic stem cell transplantation with a busulfan-containing reduced-intensity conditioning regimen. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2008, vol. 14, no. 10, pp. 1148–1155. doi: 10.1016/j.bbmt.2008.07.013.
30. Koreth J., Kim H. T., Nikiforow S., Milford E. L., Armand P., Cutler C., Glotzbecker B., Ho V. T., Antin J. H., Soiffer R. J., Ritz J., Alyea E. P. Donor chimerism early after reduced-intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation predicts relapse and survival. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2014, vol. 20, no. 10, pp. 1516–1521. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.05.025.
31. Peterlin P., Delaunay J., Guillaume T., Gastinne T., Mahé B., Dubruille V., Blin N., Le Bourgeois A., Brissot E., Lodé L., Le Gouill S., Moreau P., Mohty M., Chevallerier P. Complete donor T cell chimerism predicts lower relapse incidence after standard double umbilical cord blood reduced-intensity conditioning regimen allogeneic transplantation in adults. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2015, vol. 21, no. 1, pp. 180–184. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.08.018.
32. Huisman C., de Weger R. A., de Vries L., Tilanus M. G., Verdonck L. F. Chimerism analysis within 6 months of allogeneic stem cell transplantation predicts relapse in acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplantation*, 2007, vol. 39, no. 5, pp. 285–291. doi: 10.1038/sj.bmt.1705582.
33. Wiedemann B., Klyuchnikov E., Kröger N., Zabelina T., Stahl T., Zeschke S., Badbaran A., Ayuk F., Alchalby H., Wolschke C., Bokemeyer C., Fehse B., Zander A. R., Bacher U. Chimerism studies with quantitative real-time PCR in stem cell recipients with acute myeloid leukemia. *Experimental Hematology*, 2010, vol. 38, no. 12, pp. 1261–1271. doi: 10.1016/j.exphem.2010.08.006.
34. Jiménez-Velasco A., Barrios M., Román-Gómez J., Navarro G., Buño I., Castillejo J. A., Rodríguez A. I., García-Gemar G., Torres A., Heiniger A. I. Reliable quantification of hematopoietic chimerism after allogeneic transplantation for acute leukemia using amplification by real-time PCR of null alleles and insertion/deletion polymorphisms. *Leukemia*, 2005, vol. 19, no. 3, pp. 336–343. doi: 10.1038/sj.leu.2403622.
35. Horky O., Mayer J., Kablaskova L., Razga F., Krejci M., Kissova J., Borsky M., Jeziskova I., Dvorakova D. Increasing hematopoietic microchimerism is a reliable indicator of incipient AML relapse. *International Journal of Laboratory Hematology*, 2011, vol. 33, no. 1, pp. 57–66. doi: 10.1111/j.1751-553X.2010.01249.x.
36. Willasch A. M., Kreyenberg H., Shayegi N., Rettinger E., Meyer V., Zabel M., Lang P., Kremens B., Meisel R., Strahm B., Rossig C., Gruhn B., Klingebiel T., Niemeyer C. M., Bader P. Monitoring of hematopoietic chimerism after transplantation for pediatric myelodysplastic syndrome: real-time or conventional short tandem repeat PCR in peripheral blood or bone marrow? *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2014, vol. 20, no. 12, pp. 1918–1925. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.07.030.
37. Qin X. Y., Li G. X., Qin Y. Z., Wang Y., Wang F. R., Liu D. H., Xu L. P., Chen H., Han W., Wang J. Z., Zhang X. H., Li J. L., Li L. D., Liu K. Y., Huang X. J. Quantitative chimerism: an independent acute leukemia prognosis indicator following allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplantation*, 2014, vol. 49, no. 10, pp. 1269–1277. doi: 10.1038/bmt.2014.158.
38. Barrios M., Jiménez-Velasco A., Román-Gómez J., Madrigal M. E., Castillejo J. A., Torres A., Heiniger A. Chimerism status is a useful predictor of relapse after allogeneic stem cell transplantation for acute leukemia. *Haematologica*, 2003, vol. 88, no. 7, pp. 801–810.

39. Mo X. D., Kong J., Zhao T., Xu L. P., Zhang X. H., Liu D. H., Wang Y., Chen H., Yan C. H., Chen Y. H., Han W., Wang F. R., Wang J. Z., Liu K. Y., Huang X. J. Extramedullary relapse of acute leukemia after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation: incidence, risk factors, treatment, and clinical outcomes. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2014, vol. 20, no. 12, pp. 2023–2028. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.08.023.

40. Mattsson J., Uzunel M., Tammik L., Aschan J., Ringdén O. Leukemia lineage-specific chimerism analysis is a sensitive predictor of relapse in patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia*, 2001, vol. 15, no. 12, pp. 1976–1985.

### Информация об авторах

*Лавриненко Виктория Александровна* – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, Минская область, Минский район, дер. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: lavrnenkovictoria@gmail.com.

*Марейко Юлия Евгеньевна* – врач-гематолог. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, Минская область, Минский район, дер. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: mue@inbox.ru.

*Березовская Екатерина Юрьевна* – биолог КДЛ. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Республика Беларусь (ул. Фрунзенская, 43, Минская область, Минский район, дер. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: katarina-3004@mail.ru.

*Быданов Олег Иванович* – инженер-программист. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, Минская область, Минский район, дер. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: budanov@oncology.by.

*Белевцев Михаил Владимирович* – канд. биол. наук, доцент, зам. директора по науке. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, Минская область, Минский район, дер. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: belevtcev\_m@mail.ru.

*Минаковская Нина Вячеславовна* – канд. мед. наук, заведующий отделением. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, Минская область, Минский район, дер. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: minakovskaya@tut.by.

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

### Для цитирования

Динамика химеризма как фактор прогноза развития рецидивов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при онкогематологических заболеваниях / В. А. Лавриненко [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 2. – С. 26–40.

### Information about the authors

*Lavrinenko Victoria Aleksandrovna* – Researcher. Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., Borovlyani, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: lavrnenkovictoria@gmail.com.

*Mareika Yuliya Evgenievna*. – hematologist. Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., Borovlyani, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: mue@inbox.ru.

*Berezovskaya Ekaterina Yurievna* – biologist of diagnostics laboratory. Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., Borovlyani, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: katarina-3004@mail.ru.

*Bydanov Oleg Ivanovich* – software engineer. Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., Borovlyani, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: budanov@oncology.by.

*Belevtsev Mikhail Vladirovich* – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor, Head of Research Department. Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., Borovlyani, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: belevtcev\_m@mail.ru.

*Minakovskaya Nina Vyacheslavovna* – Ph. D. (Med.), Head of the Department. Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., Borovlyani, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: minakovskaya@tut.by.

*Aleynikova Olga Vitalievna* – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, director. Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., Borovlyani, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: aleinikova2004@mail.ru.

### For citation

Lavrinenko V. A., Mareika Yu. E., Berezovskaya E. Yu., Bydanov O. I., Belevtsev M. V., Minakovskaya N. V., Aleynikova O. V. Chimerism as prognostic factor of relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in hematological malignancies. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2017, no. 2, pp. 26–40.

ISSN 1814-6023 (print)

УДК 611.137.2:616.13-004.6-073.75

Поступила в редакцию 06.03.2017

Received 06.03.2017

**А. В. Быстренков<sup>1</sup>, Э. А. Повелица<sup>2</sup>, Н. С. Сердюченко<sup>3</sup>, Н. И. Доста<sup>4</sup>, Д. М. Ниткин<sup>4</sup>**<sup>1</sup>*Гомельский областной клинический кардиологический центр, Гомель, Республика Беларусь*<sup>2</sup>*Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Республика Беларусь*<sup>3</sup>*Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*<sup>4</sup>*Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь*

### **КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВАРИАНТОВ ВЕТВЛЕНИЯ ВНУТРЕННЕЙ ПОДВЗДОШНОЙ АРТЕРИИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С МУЛЬТИФОКАЛЬНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ**

Система кровоснабжения внутренней подвздошной артерии (ВПА) сложна и разнообразна. Ввиду сложности тазовой артериальной системы знание анатомических особенностей имеет первостепенное значение. Нами изучена возможность применения классификаций Adachi и Yamaki при использовании мультиспиральной компьютерной томографии с ангиографическим усилением (МСКТ-ангиографии) и динамической цифровой субтракционной ангиографии (ДЦСА) у пациентов с мультифокальным атеросклерозом и проведен сравнительный анализ результатов этих диагностических методов исследования.

На основе собственного практического опыта оценена возможность использования рентгенологических методов исследования в визуализации вариантов ветвления и деления ВПА у мужчин в соответствии с классификациями Adachi и Yamaki при мультифокальном атеросклеротическом поражении для улучшения диагностики и повышения эффективности эндоваскулярных вмешательств на артериях органов малого таза при различной патологии.

Проведен ретроспективный анализ МСКТ-ангиографии и ДЦСА у 30 пациентов мужского пола с мультифокальным атеросклерозом в соответствии с классификациями Adachi и Yamaki. Сравнение методов исследования основывалось на выявлении атеросклеротических поражений ВПА и внутренней половой артерии при проведении стандартного диагностического исследования: ДЦСА в сравнении с МСКТ-ангиографией. Произведен расчет чувствительности и специфичности ДЦСА в диагностике стенозо-окклюзионных поражений внутренней половой артерии и магистральных артерий подвздошных сегментов.

На диагностическом этапе указанными рентгенологическими методами исследования в условиях мультифокального поражения не всегда удается определить тип отхождения основных ветвей ВПА. Только 65,95 % исследованных ВПА были классифицированы по Adachi и Yamaki при анализе МСКТ-ангиографии и 47,83 % при анализе ДЦСА. Чувствительность и специфичность ДЦСА в диагностике поражений магистральных сосудов составили 93,1 и 80,0 %, а в диагностике поражений внутренней половой артерии – 60,0 и 75,0 % соответственно.

Классификации Adachi и Yamaki являются рентгенологически воспроизводимыми, но в ряде случаев на диагностическом этапе в условиях мультифокального поражения не всегда удается определить тип отхождения основных ветвей ВПА. Учитывая сложность, а также вариабельность тазовой артериальной системы у пациентов с мультифокальным атеросклеротическим поражением, методом выбора диагностического исследования для моделирования возможного хирургического или эндоваскулярного вмешательства является МСКТ-ангиография.

*Ключевые слова:* внутренняя подвздошная артерия, внутренняя половая артерия, вариантная анатомия, ангиография, мультиспиральная компьютерная томография, динамическая цифровая субтракционная ангиография.

**A. V. Bystrenkov<sup>1</sup>, E. A. Povelitsa<sup>2</sup>, N. S. Serdjuchenko<sup>3</sup>, N. I. Dosta<sup>4</sup>, D. M. Nitkin<sup>4</sup>**<sup>1</sup>*Gomel Regional Clinical Cardiological Center, Gomel, Republic of Belarus*<sup>2</sup>*Republican Scientific Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus*<sup>3</sup>*Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*<sup>4</sup>*Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus*

### **CLINICAL ASSESSMENT OF THE INTERNAL ILIAC ARTERY BRANCHING VARIANTS AT X-RAY EXAMINATIONS IN PATIENTS WITH MULTIFOCAL ATHEROSCLEROSIS**

The variant anatomy of the Internal Iliac Artery (IIA) is diverse and complex. Due to the complexity of the pelvic arterial system, thorough anatomical knowledge is paramount. We evaluated the applicability of the Adachi and Yamaki classification with Computerized Tomography Angiography (CTA) and Digital Subtraction Angiography (DSA) in the evaluation of patients with multifocal atherosclerosis. Results of these diagnostic research methods were compared.

Our purpose was to evaluate the ability of CTA and DSA, to determine a branch typing of IIA, to improve diagnosis and treatment in patients with complex multifocal lesions.

The single-center retrospective analysis of CTA and DSA findings in 30 male patients with multifocal atherosclerosis was made. The branching patterns of IIA were classified according to the Adachi and Yamaki classifications. The comparison of the research methods was based on revealing atherosclerotic lesions of IIA or the Internal Pudendal Arteries (IPA) during the standard diagnostic investigation: CTA versus DSA. At the same time, we calculated the sensitivity and specificity of DSA in the diagnosis of IPA lesions and the main arteries of the iliac segments.

Computerized Tomography Angiography and Digital Subtraction Angiography findings did not allow the classification of all the pelvic sides according to the Adachi and Yamaki classifications. So, only 65.95 % of the investigated branch types of IIA were determined due to CTA, and only 47.83 % – due to DSA. The DSA sensitivity and specificity in the diagnosis of main vessel lesions was 93.1 and 80.0 %, respectively. The DSA sensitivity and specificity in the diagnosis of IPA lesions was 60.0 and 75.0 %, respectively.

The Adachi and Yamaki classifications are radiologically reproducible but do not allow easy recognition of the main IIA branches in patients with multifocal atherosclerosis. Due to the complexity and variability of the pelvic arterial system, especially in patients with multifocal lesions, it is necessary to carry out primarily CTA for modeling possible surgical or endovascular intervention.

*Keywords:* internal iliac artery; internal pudendal artery, anatomic variation; angiography, computerized tomography angiography, digital subtraction angiography.

**Введение.** Система кровоснабжения органов малого таза чрезвычайно вариабельна и сложна. В энциклопедии вариантной анатомии Бергмана приводится 49 подтипов деления основных ветвей внутренней подвздошной артерии (ВПА) [1].

В ряде клинических ситуаций возникает необходимость как экстренного, так и планового хирургического вмешательства на сосудах бассейна ВПА. Речь идет об остановке угрожающих жизни пациента кровотечениях из органов малого таза (маточное кровотечение, кровотечение из опухолей прямой кишки, мочевого пузыря, аррозивное кровотечение из обширных полостей ягодичной области после вскрытия гнойников, глубокие проникающие ранения ягодичной области). Для остановки кровотечения из ветвей ВПА одним из методов выбора оперативного лечения является перевязка общего ствола ВПА с одной или с обеих сторон [2–4].

После операции перевязки общего ствола ВПА в отдаленном периоде могут возникать симптомы недостаточности кровообращения органов и тканей, получавших кровоснабжение из определенных ветвей ВПА. Перевязка общего ствола ВПА у мужчин фертильного возраста, ведущих активную половую жизнь, в последующем может привести к артериогенной эректильной дисфункции (ЭД), поскольку одной из ветвей ВПА является внутренняя половая артерия [5–7].

Однако если при угрожающем витальном кровотечении показания к перевязке общего ствола ВПА определяют тактику такого оперативного вмешательства как одну из наиболее оптимальных ввиду временных ограничений, то в случае с хроническими рецидивирующими кровотечениями предпочтительным является селективное и суперселективное блокирование ветвей ВПА.

В этой связи актуальным становится применение интервенционных рентгенэндоваскулярных методов визуализации и селективного манипулирования на сосудах ВПА. В последнее время активно развивается интервенционная эндоваскулярная хирургия сосудов ВПА [7–9].

Рентгенанатомия артерий малого таза имеет важное значение при проведении плановых эндоваскулярных операций на ВПА (ангиопластика, стентирование) при ЭД у мужчин, при эндоваскулярной эмболизации маточных артерий при миоме матки и простатических артерий при доброкачественной гиперплазии предстательной железы [7–9].

В настоящей работе нами сделан акцент на изучении вариантной рентгенанатомии ВПА и отхождения от нее внутренней половой артерии как одной из возможных причин артериогенной ЭД у мужчин со стенозо-окклюзионным поражением ветвей ВПА при мультифокальном атеросклерозе [10].

Изучение вариантной рентгенанатомии ВПА у мужчин в норме и при патологии, а также выявление поражений в виде стенозов и окклюзий, приводящих к нарушению артериальной перфузии, является важным диагностическим этапом в установлении не только причин артериогенной ЭД, но и возможных способов ее коррекции. Таким образом, визуализация указанной артерии и патологических изменений в ней при проведении рентгенологических исследований может быть полезной при последующем планировании реконструктивных вмешательств на артерии с целью коррекции артериогенной ЭД как открытыми способами, так и рентгенэндоваскулярными методами.

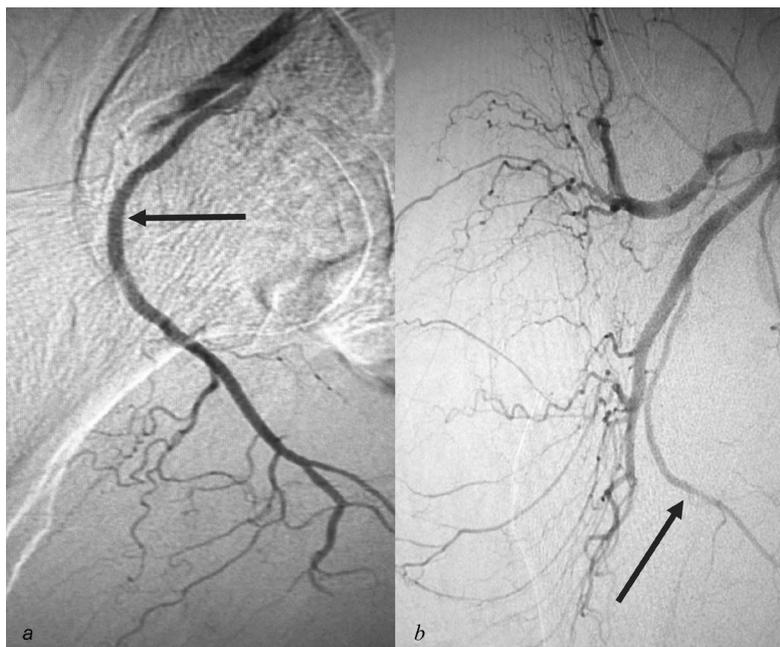


Рис. 1. Визуализация внутренней половой артерии и ее ветвей при помощи ДЦСА: *a* – селективная ангиограмма правой внутренней половой артерией (указана стрелкой), *b* – ангиограмма правой внутренней подвздошной артерии (указана стрелкой)

Fig. 1. DSA visualization of the internal pudendal artery and its branches: *a* – selective angiogram of the right internal pudendal artery (shown by the arrow), *b* – angiogram of the right internal iliac artery (shown by the arrow)

Варианты ветвления ВПА изучаются уже более 100 лет, и на протяжении многих десятилетий единственным полноценным методом изучения анатомических особенностей ветвления ВПА была патологоанатомическая секция с морфологическим изучением ветвления ствола и основных ветвей ВПА [11].

На основании многочисленных секционных исследований в 1928 г. группой японских исследователей во главе с В. Adachi [12] предложена классификация ветвления ВПА с группированием основных артериальных сосудов, отходящих от ствола ВПА, а также с систематизацией вариантов выхода конечных ветвей артерии из полости малого таза.

С появлением компьютерной томографии и динамической ангиографии появилась возможность прижизненной клинической интерпретации вариантной анатомии ВПА. В 1998 г. другая группа ученых из Японии во главе с К. Yamaki [13–15] предложила модификацию классификации Adachi, которая в настоящий момент общепризнанна и является основой для исследований в этой области.

Для определения нормальной и вариантной анатомии ветвления ВПА используют мульти-спиральную компьютерную томографию (МСКТ) с ангиографическим усилением, признанную в настоящее время «золотым стандартом». Динамическая цифровая субтракционная ангиография (ДЦСА), являясь инвазивным рентгенэндоваскулярным методом исследования сосудов, активно используется с диагностической и лечебной целью (рис. 1) и показывает преимущества в исследовании динамических показателей кровотока по сравнению со статическим изображением МСКТ [15].

В связи с развитием цифровых технологий и усовершенствованием диагностического оборудования для исследования сосудов в последние годы активно применяется магнитно-резонансная томографическая ангиография (МРТА). МСКТ, ДЦСА и МРТА обладают высокими диагностическими характеристиками в визуализации артерий бассейна аорто-подвздошного сегмента [14, 16].

Следует отметить, что в случае мультифокального поражения сосудистого русла аорто-подвздошного сегмента отмечаются значительные сложности в клиническом ремоделировании вариантов ветвления ВПА независимо от используемого метода исследования. Это объясняется большим количеством основных ветвей ВПА с признаками их обрыва, выявляемыми на ангиограммах, вследствие окклюзионного поражения атеросклеротическими бляшками, а также сложностями визуализации и интерпретации анатомии сосудов бассейна ВПА.



Рис. 2. Ангиография правой общей подвздошной артерии. Стрелкой указана окклюзированная от устья правая внутренняя подвздошная артерия

Fig. 2. Angiography of the right common iliac artery. The arrow shows the right internal iliac artery occluded from the artery mouth

В нашем исследовании анализировались тяжелые поражения ветвей ВПА вплоть до окклюзии устья ствола ВПА с двух сторон. В таких случаях объективно сопоставить результаты исследования с классификацией Adachi–Yamaki не представлялось возможным (рис. 2).

Цель настоящей работы – оценить на основе собственного практического опыта возможности рентгенологических методов исследования в визуализации вариантов ветвления и деления внутренней подвздошной артерии у мужчин в соответствии с классификацией Adachi–Yamaki в условиях мультифокального атеросклеротического поражения для улучшения диагностики и повышения эффективности эндоваскулярных вмешательств на артериях органов малого таза при различной патологии.

**Материалы и методы исследования.** При обследовании 30 пациентов мужского пола с мультифокальным атеросклеротическим поражением аорто-подвздошного сегмента проведен анализ вариантов ветвления и деления ВПА согласно классификациям Adachi и Yamaki. По медицинским показаниям всем 30 пациентам выполнена ДЦСА в одной или нескольких проекциях с последующим интервенционным вмешательством на магистральных сосудах подвздошно-бедренного сегмента. При этом проведен анализ 46 ВПА и ее ветвей по двум тазовым половинам. Предварительно 22 пациентам этой группы выполнена МСКТ-ангиография. Оценены 44 ВПА и ее ветвей по двум тазовым половинам по данным МСКТ. После этого проведено сопоставление результатов полученных ангиографических изображений 34 тазовых половин при ДЦСА и МСКТ. Результаты исследования были систематизированы согласно классификациям Adachi и Yamaki. При этом учитывали наличие или отсутствие стенозо-окклюзионных поражений подвздошных магистральных артерий и ВПА обеих тазовых половин.

Рентгенэндоваскулярное исследование выполняли на двухпроекционной ангиографической системе Innova 3131 – IQ Biplane Cardiovascular Imaging System (General Electric, France, 2010), МСКТ-ангиографию – на мультиспиральном 32-срезовом компьютерном томографе LightSpeed Pro32 (General Electric) с последующим 3D моделированием артериального русла.

Статистический анализ проведен с использованием пакета статистических программ Statistica 6.0. Использовали непараметрические и параметрические методы статистической обработки полученных результатов. Статистическая значимость различий исследуемых параметров

В связи с широкой распространенностью системных заболеваний, приводящих к мультифокальному поражению сосудистого русла, может возникнуть дефицит диагностической информации, что снижает полноценность анализа вариантной анатомии кровоснабжения органов малого таза, в том числе и при артериогенных формах ЭД у мужчин [17–19].

В настоящее время отсутствуют общепринятые рекомендации в диагностике и интерпретации вариантов отхождения ветвей ВПА при выполнении ангиографических исследований артерий малого таза у мужчин, особенно при ДЦСА. Данный факт неблагоприятно сказывается на поиске новых способов реконструктивных вмешательств при артериогенных формах ЭД с поражением ВПА, а также при других интервенционных эндоваскулярных вмешательствах на артериях органов малого таза у мужчин.

При анализе ранее проведенных исследований такого рода отмечалась практически полная возможность адаптации результатов исследования как МСКТ, так и ДЦСА к классификации Adachi–Yamaki [14, 19].

между группами проведена с применением непараметрического критерия  $\chi$ -квадрат Пирсона и точного критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Диагностическую ценность ДЦСА при поражениях магистральных сосудов, ветвей ВПА, внутренней половой артерии у мужчин с мультифокальным атеросклерозом оценивали путем расчета чувствительности и специфичности метода в визуализации указанных артериальных стволов с целью дальнейшего прогнозирования топической диагностики артериогенной ЭД.

Значимым считалось сужение магистрального сосуда аорто-подвздошного сегмента и внутренней половой артерии более чем на 70 % с исследуемой стороны. Пациентов с пограничными поражениями указанных артерий (от 50 до 70 %) исключали из исследования. Лиц с поражениями менее 50 % включали в группу пациентов с отсутствием значимых поражений указанных артерий на стороне исследования.

Для определения типа ветвления ВПА проведен сравнительный анализ результатов ангиографических исследований ВПА, полученных при ДЦСА и МСКТ-ангиографии.

**Результаты и их обсуждение.** Всем 30 пациентам с стенозо-окклюзионными поражениями, включенным в исследование по медицинским показаниям, выполнено интервенционное рентгенэндоваскулярное лечение магистральных сосудов. После получения сосудистого доступа проведено ангиографическое исследование пораженного подвздошного сегмента в одной или нескольких проекциях. Показания к дополнительным проекциям определяли во время рентгенэндоваскулярного исследования с учетом сложности и распространенности поражения магистральных сосудов аорто-подвздошного сегмента.

МСКТ-ангиографию выполняли по стандартным протоколам с пакетной 3D постобработкой. При МСКТ с ангиографическим усилением артериальные сосуды исследуемой области могли подвергаться как пространственному вариантному анализу, так и качественному определению наличия стенозо-окклюзионных поражений на их протяжении. Кроме того, в некоторых случаях (например, при наличии грубых кальцинированных поражений) МСКТ-ангиография позволяла с большей точностью определять варианты ветвления ВПА ввиду того, что кальцинированные атеросклеротические бляшки повторяли контуры сосудов даже при тотальных окклюзиях просвета артерий.

При анализе результатов ангиографического исследования магистральных сосудов аорто-подвздошного сегментов, полученных при выполнении ДЦСА и МСКТ, нами не выявлено статистически значимых различий в визуализации патологических изменений артерий указанными способами (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Результаты качественного и количественного анализа рентгенологических методов исследования у пациентов с мультифокальным атеросклеротическим поражением

Table 1. Results of the qualitative and quantitative analysis of the X-ray methods of treatment of patients with multifocal atherosclerosis

Исследуемый параметр	МСКТ-ангиография	ДЦСА
Всего исследованных тазовых половин	44	46
Поражения магистральных сосудов	35	39
Поражения внутренней половой артерии	41*	26*
Количество вариантов ветвления ВПА по классификациям Adachi и Yamaki	29	22

П р и м е ч а н и е. \* – статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ).

В диагностике стенозо-окклюзионных поражений внутренней половой артерии ДЦСА продемонстрировала статистически значимо ( $p < 0,01$ ) более низкие диагностические показатели по сравнению с МСКТ. Основная причина низких диагностических возможностей ДЦСА в выявлении стенозо-окклюзионных поражений внутренней половой артерии – сложность интерпретации плоскостных изображений в моно- и/или в полипроекционных исследованиях (табл. 1).

В то же время в случае тяжелых окклюзионных поражений подвздошных артерий ДЦСА, в отличие от МСКТ, позволяла выявить коллатеральный кровоток в малом тазу у мужчин, определить направление кровотока в коллатеральной артерии, оценить визуально скорость кровотока, время отставания и распределения контрастного вещества относительно непораженных сегментов.

При сопоставлении результатов ДЦСА и МСКТ с классификациями Adachi и Yamaki важным клиническим критерием являлась возможность определения вариантов ветвления ВПА в условиях множественного стенозо-окклюзионного поражения в исследуемом бассейне. Определение индивидуальной вариантной анатомии ветвления ВПА позволяет использовать ее в качестве значимого ориентира для дифференцирования артериальных ветвей ВПА при эндоваскулярных вмешательствах на артериях подвздошных сегментов. В нашем исследовании при анализе результатов МСКТ-ангиографии возможность определения вариантов деления ВПА отсутствовала у 34 % обследуемых, а при анализе данных ДЦСА – у 52,17 % (табл. 2). Невозможность определения характера ветвления ВПА при анализе результатов как МСКТ-исследования с ангиографическим усилением, так и ДЦСА была связана с множественными тяжелыми поражениями сосудов исследуемого сегмента. Кроме того, в большинстве случаев при проведении стандартных ДЦСА-исследований возникали сложности в дифференцировании подтипов (согласно классификации Adachi) вариантов ветвления ВПА при выходе ее конечных ветвей из полости малого таза ввиду выполнения специальных целенаправленных проекций, характерных для интервенционного вмешательства на магистральных сосудах. При этом такие проекции не являлись оптимальными для анализа взаимоотношения ветвей ВПА с полостью малого таза, в отличие от значительно более универсальных результатов МСКТ-ангиографии. Также значительные сложности в диагностике варианта ветвления при анализе ДЦСА возникали при наличии раннего деления ВПА на основные ветви (тип III по классификации Adachi) либо при отхождении общего ствола и дальнейшем его ветвлении на верхнюю и нижнюю ягодичные, а также внутреннюю половую артерии (тип IV по классификации Adachi), составляющих вместе группу С по классификации Yamaki (табл. 2).

Таблица 2. Вариабельность ветвления ВПА по данным МСКТ-ангиографии и ДЦСА

Table 2. Variability of the IIA branching according to the CTA and DSA data

Классификация Yamaki	Классификация Adachi	Частота встречаемости варианта, %	
		МСКТ-ангиография	ДЦСА
Группа А	Тип IA	22,73	21,74
	Тип IB	11,37	
Группа В	Тип IIA	9,1	26,09
	Тип IIB	9,1	
Группа С	Тип III	4,55	–
	Тип IVA	4,55	
	Тип IVB	4,55	
Группа D	Тип V	–	–
Невозможность определить вариант деления		34,05	52,17

В сопоставимых 34 тазовых половинах, визуализированных ДЦСА и МСКТ, произведен расчет чувствительности и специфичности ДЦСА по сравнению с МСКТ-ангиографией в диагностике стенозо-окклюзионных поражений.

Для магистральных сосудов чувствительность ДЦСА в диагностике стенозо-окклюзионных поражений составила 93,1 %, специфичность – 80,0 %. Для ВПА чувствительность ДЦСА в диагностике стенозо-окклюзионных поражений составила 60,0 %, специфичность – 75,0 %. Таким образом, для магистральных сосудов продемонстрированы высокие диагностические показатели чувствительности и специфичности метода ДЦСА в диагностике стенозо-окклюзионных поражений.

С другой стороны, при сравнительном анализе МСКТ-ангиографии относительно ДЦСА грубый кальциноз тазовых сосудов у некоторых пациентов с критическим стенозом сосудов подвздошного сегмента значительно затруднял определение степени стенозирования просвета вследствие сложности дифференцирования ангиографически усиленного кровотока и кальцинированной атеросклеротической бляшки. При этом ДЦСА, являющаяся по сути люминографией, без труда определяла стенотическое поражение исследуемых сегментов как критическое.

Невысокие показатели чувствительности ДЦСА, включая полипроекционные исследования, по сравнению с МСКТ-ангиографией в диагностике стенозо-окклюзионных поражений внутренней

половой артерии при мультифокальном атеросклеротическом поражении обусловлены плоскостным характером получаемых изображений.

С другой стороны, в отличие от МСКТ, при проведении ДЦСА в виде диагностического исследования существует возможность непосредственного интервенционного вмешательства, в том числе и на ветвях ВПА.

**Заключение.** Использование для морфологической систематизации деления ВПА классификации Adachi и ее модификации Yamaki предполагает секционный или интраоперационный способ изучения ветвления и отхождения ВПА. На диагностическом этапе высокоточными рентгенологическими методами исследования в условиях мультифокального поражения не всегда удается определить тип отхождения основных ветвей ВПА. Таким образом, клиническая интерпретация диагностических результатов может затруднить моделирование планируемого реконструктивного вмешательства на органах и тканях, кровоснабжающихся из бассейна ВПА. Указанные классификации не предполагают наличия или отсутствия стенозо-окклюзионных поражений в бассейне ветвей ВПА, а также наличия и выраженности коллатеральной артериальной сети указанных сегментов. С другой стороны, при возникновении жизнеугрожающих кровотечений в бассейне ВПА знание вариантов ее ветвления и методов их диагностики позволит избежать высокой неселективной перевязки артерии и возможных впоследствии симптомов недостаточности кровообращения.

По нашим данным, проведение ДЦСА-исследования без 3D анализа не позволяет четко дифференцировать ветви ВПА при наличии сложных мультифокальных поражений аорто-подвздошных сегментов.

Методом выбора исследования, по нашему мнению, является МСКТ-ангиография, при которой такой диагностический показатель, как визуализация ветвей ВПА у мужчин в условиях мультифокального атеросклероза, на 18,12 % выше, чем при ДЦСА.

По данным Y. Kawanishi и соавт. [15], МСКТ продемонстрировала высокие показатели диагностической ценности метода в диагностике стенозо-окклюзионных поражений внутренней половой артерии: чувствительность – 93 %, специфичность – 71 %.

С другой стороны, ДЦСА позволяет оценить динамические показатели кровотока в режиме реального времени, что особенно важно при наличии мультифокальных поражений. Неоспоримым преимуществом МСКТ-ангиографии является ее изначальная билатеральность и универсальность, в то время как ДЦСА, являясь инвазивной методикой, выполняется с отдельными показаниями для каждой исследуемой области и каждой последующей проекции. ДЦСА может использоваться в диагностике стенозо-окклюзионных поражений ветвей ВПА в качестве подтверждающего теста, а также в случае необходимости эндоваскулярного вмешательства в подвздошно-бедренном сегменте.

#### Список использованных источников

1. Tubbs, R. Sh. Bergman's Comprehensive Encyclopedia of Human Anatomic Variation / R. Sh. Tubbs, M. M. Shoja, M. Loukas. – Wiley-Blackwell, 2016. – 1456 p.
2. Сорока, В. В. Неотложные сердечно-сосудистые операции в практике общего хирурга / В. В. Сорока. – Волгоград : Изд-во Волгоград. гос. ун-та, 2001. – 204 с.
3. Опыт двусторонней перевязки внутренних подвздошных артерий в хирургии органов малого таза / П. Г. Осипов [и др.] // Науч. ведомости Белгород. гос. ун-та. [Сер. Медицина. Фармация] = Belgorod State University Scientific bulletin. [Series Medicine. Pharmacy]. – 2016. – № 26 (247), вып. 36. – С. 14–18.
4. Кованов, В. В. Оперативная хирургия и топографическая анатомия / В. В. Кованов. – М. : Медицина, 2003. – 400 с.
5. Околокулак, Е. С. Эректильная дисфункция сосудистого генеза / Е. С. Околокулак. – Гродно : Изд-во Гродн. гос. ун-та, 2004. – 96 с.
6. Erectile dysfunction in primary care: prevalence and patient characteristics: the ENIGMA study / B. J. de Boer [et al.] // Intern. J. Impot. Res. 2004. – Vol. 16, N 3. – P. 214–219.
7. Жуков, О. Б. Рентгенэндоваскулярные методы лечения васкулогенной эректильной дисфункции / О. Б. Жуков, С. Н. Щербинин, В. А. Уколов // Андрология и генитал. хирургия. – 2014. – Т. 15, № 3. – С. 67–73.
8. Ситкин, И. И. Эмболизация маточных артерий – эффективный и безопасный метод лечения миомы матки / И. И. Ситкин // Вестн. репродуктив. здоровья. – 2011. – № 2. – С. 11–17.
9. Zotarolimus-eluting peripheral stents for the treatment of erectile dysfunction in subjects with suboptimal response to phosphodiesterase-5 inhibitors / J. H. Rogers [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2012. – Vol. 60, N 25. – P. 2618–2627.

10. Андрология. Мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы : пер. с англ. / под ред. Э. Нишлаг, Г. Бере. – М. : Мед. информ. агентство, 2005. – 554 с.
11. Previous Investigations // *Acta Radiologica. Diagnosis.* – 1967. – Vol. 6, suppl. 263. – P. 8–46.
12. Adachi, B. *Das Arterien system der Japaner* / B. Adachi ; Verlag der Kaiserlich-Japanischen Universitat. – Kyoto : Kenyusha Press, 1928. – Vol. 1.
13. A statistical study of the branching of the human internal iliac artery / K. Yamaki [et al.] // *Kurume Med. J.* – 1998. – Vol. 45. – P. 333–340.
14. Variations of the internal pudendal artery as a congenital contributing factor to age at onset of erectile dysfunction in Japanese / Y. Kawanishi [et al.] // *BJU Intern.* – 2008. – Vol. 101. – P. 581–587.
15. Feasibility of multi-slice computed tomography in the diagnosis of arteriogenic erectile dysfunction / Y. Kawanishi [et al.] // *BJU Intern.* – 2001. – Vol. 88. – P. 390–395.
16. Современные методы диагностики сосудистой формы эректильной дисфункции / Э. А. Повелица [и др.] // *Медицина.* – 2016. – № 1. – С. 34–40.
17. *Здравоохранение в Республике Беларусь : офиц. стат. сб. за 2015 г. / Респ. науч.-практ. центр мед. технологий, информатизации, управления и экономики здравоохранения.* – Минск : Респ. науч. мед. б-ка, 2016. – 278 с.
18. Вариантная анатомия внутренней подвздошной артерии и ее визуализация методом трехмерного моделирования / А. В. Колсанов [и др.] // *Фундам. исслед.* – 2013. – № 9, ч. 2. – С. 247–251.
19. Radiologic anatomy of arteriogenic erectile dysfunction / J. A. Pereira [et al.] // *Acta Med. Port.* – 2013. – Vol. 26, N 3. – P. 219–225.

## References

1. Tubbs R. Sh., Shoja M. M., Loukas M. *Bergman's Comprehensive Encyclopedia of Human Anatomic Variation.* Wiley-Blackwell, 2016. 1456 p. doi: 10.1002/9781118430309.
2. Soroka V. V. *Urgent cardiovascular surgery in the practice of a general surgeon.* Volgograd, Izdatel'stvo Volgogradskogo gosudarstvennogo universiteta [VolGU publ.], 2001. 204 p. (in Russian).
3. Osipov P. G., Hoshhenko Ju. A., Beresh A. A., Hanin Ju. S. Experience With Bilateral Ligation of Internal Iliac Arterien in Surgery of the Pelvic Organs. *Belgorod State University Scientific bulletin. [Series] Medicine. Pharmacy*, 2016, no. 26 (247), iss. 36, pp. 14–18. (in Russian).
4. Kovanov V. V. *Operative surgery and topographic anatomy.* Moscow, Meditsina [Medicine], 2003. 400 p. (in Russian).
5. Okolokulak E. S. *Erectile dysfunction of vascular genesis.* Grodno, Izdatel'stvo Grodnenskogo gosudarstvennogo universiteta [GrGMU publ.], 2004. 96 p. (in Russian).
6. De Boer B. J., Bots MiL., Lycklama A. et al. Erectile dysfunction in primary care: prevalence and patient characteristics: the ENIGMA study. *International Journal of Impotence Research*, 2004, vol. 16, no. 3, pp. 214–219.
7. Zhukov O. B., Shherbinin S. N., Ukolov V. A. Endovascular treatment of vasculogenic erectile dysfunction. *Andrologiia i genital'naia khirurgiia* [Andrology and Genital Surgery], 2014, vol. 15, no. 3, pp. 67–73. doi:10.17650/2070-9781-2014-3-67-73.
8. Sitkin I. I. Embolization of uterine arteries is an effective and safe method of treatment of uterine myoma. *Vestnik reproductivnogo zdorov'ia* [Reproductive health bulletin], 2011, no. 2, pp. 11–17. (in Russian).
9. Rogers J. H., Goldstein I., Kandzari D. E., Köhler T. S., Stinis C. T., Wagner P. J., Popma J. J., Jaff M. R., Rocha-Singh K. J. Zotarolimus-eluting peripheral stents for the treatment of erectile dysfunction in subjects with suboptimal response to phosphodiesterase-5 inhibitors. *Journal of the American College of Cardiology*, 2012, vol. 60, no. 25, pp. 2618–2627.
10. *Andrology. Men's health and reproductive system dysfunction*, in Nishlag Je., Bere G. M. (ed.), translation from English. Moscow, Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo [MIA publ.], 2005. 554 p. (in Russian).
11. Previous Investigations. *Acta Radiologica. Diagnosis*, 1967, vol. 6, suppl. 263, pp. 8–46.
12. Adachi B. *Das Arterien system der Japaner.* Kyoto, Verlag der Kaiserlich-Japanischen Universitat, Kenyusha Press, 1928, vol. 12, pp. 29–41.
13. Yamaki K., Saga T., Doi Y., Aida K., Yoshizuka M. A statistical study of the branching of the human internal iliac artery. *Kurume Medical Journal*, 1998, vol. 45, pp. 333–340.
14. Kawanishi Y., Muguruma H., Sugiyama H., Kagawa J., Tanimoto S., Yamanaka M., Kojima K., Numata A., Kishimoto T., Nakanishi R., Kanayama H. Variations of the internal pudendal artery as a congenital contributing factor to age at onset of erectile dysfunction in Japanese. *BJU International*, 2008, vol. 101, pp. 581–587.
15. Kawanishi Y., Lee K. S., Kimura K., Kojima K., Yamamoto A., Numata A. Feasibility of multi-slice computed tomography in the diagnosis of arteriogenic erectile dysfunction. *BJU International*, 2001, vol. 88, pp. 390–395.
16. Povelitsa E. A., Dosta N. I., Domantsevich V. A., Grakhovskii S. Iu., Filiustin A. E., Anichkin V. V., Nitkin D. M., Shesternia A. M. Modern methods of diagnosing the vascular form of erectile dysfunction. *Meditsina* [Medicine], 2016, no. 1, pp. 34–40. (in Russian).
17. *Public health in the Republic of Belarus. An official statistic collection, 2015.* Minsk, Respublikanskaia meditsinskaia nauchnaia biblioteka [Republican Scientific Medical Library], 2016. 278 p. (in Russian).
18. Kolsanov A. V., Nazarian A. K., Iaremin B. I., Chaplygin S. S., Iunusov R. R. Variant anatomy of the internal iliac artery and its visualization using three-dimensional modeling. *Fundamental'nye issledovaniia* [Fundamental Research], 2013, no. 9, part 2, pp. 247–251. (in Russian).
19. Pereira J. A., Bilhim T., Rio T. H., Fernandes L., Martins P. J., Goyri-O'Neill J. Radiologic anatomy of arteriogenic erectile dysfunction: a systematized approach. *Acta Medical Port*, 2013, vol. 26, no. 3, pp. 219–225.

### Информация об авторах

*Быстренков Александр Владимирович* – рентген-эндovasкулярный хирург. Гомельский областной клинический кардиологический центр (Студенческий проезд, 1-45, 246012, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: alsurgi@mail.ru.

*Повелица Эдуард Анатольевич* – канд. мед. наук, уролог. Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (ул. ак. Павлова, 22-79, 246029, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: povelitsaed@gmail.com.

*Сердюченко Николай Сергеевич* – академик, д-р мед. наук, профессор. Президиум Национальной академии наук Беларуси (пр. Независимости, 66, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

*Доста Николай Иванович* – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь).

*Ниткин Дмитрий Михайлович* – канд. мед. наук, доцент, заведующий кафедрой. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь).

### Для цитирования

Клиническая оценка вариантов ветвления внутренней подвздошной артерии при проведении рентгенологических методов исследования у пациентов с мультифокальным атеросклерозом / А. В. Быстренков [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 2. – С. 41–49.

### Information out the authors

*Bystrenkov Aleksandr Vladimirovich* – endovascular surgeon. Gomel Regional Clinical Cardiological Center (1-45, Studencheskij proezd, 246012, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: alsurgi@mail.ru.

*Povelitsa Eduard Anatol'evich* – Ph. D. (Med.), urologist. Republican Scientific Center for Radiation Medicine and Human Ecology (22-79, Akad. Pavlov Str., Gomel, Republic of Belarus). E-mail: povelitsaed@gmail.com.

*Serdjuchenko Nikolai Sergeevich* – Academician, D. Sc. (Med.), Professor. Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

*Dosta Nikolai Ivanovich* – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus).

*Nitkin Dmitrij Mihajlovich* – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Head of the Department. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus).

### For citation

Bystrenkov A. V., Povelitsa E. A., Serdjuchenko N. S., Dosta N. I., Nitkin D. M. Clinical assessment of the internal iliac artery branching variants at X-ray examinations in patients with multifocal atherosclerosis. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2017, no. 2, pp. 41–49.

**Н. В. Завада, О. Е. Волков, С. Н. Рябцева, И. А. Швед**

*Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь*

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭВЕРТИРОВАННОГО  
МЕХАНИЧЕСКОГО ШВА, УКРЫТОГО АМНИОТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНОЙ,  
ПРИ РАЗРЫВЕ ТОНКОЙ КИШКИ В УСЛОВИЯХ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПЕРИТОНИТА**

Дана оценка морфологическим изменениям в зоне укрытого криоконсервированной амниотической мембраной эвертированного механического шва поврежденной тонкой кишки, наложенного в условиях экспериментального перитонита.

С помощью разработанной оригинальной экспериментальной модели выполнено моделирование разрыва тонкой кишки у 54 кроликов. Поврежденную петлю кишки погружали в брюшную полость и при повторной операции ушивали в условиях перитонита. Все экспериментальные животные были разделены на две группы: ПЗ (поврежденную петлю тонкой кишки ушивали через 3 ч после ее повреждения) и П24 (ушивание поврежденной кишки проводили через 24 ч после ее повреждения). В каждой группе выделены по три подгруппы: РШ (на поврежденную тонкую кишку накладывали швы вначале Шмидена, затем Ламбера), СТ (ушивание поврежденной тонкой кишки выполнено эвертированным механическим швом с перитонизацией его швом Ламбера) и СТ + АМ (накладывали эвертированный механический шов, укрытый лоскутом криоконсервированной амниотической мембраны). Животных выводили из эксперимента после выполнения ушивания поврежденной кишки на 7, 14 и 30-е сутки.

При морфологическом исследовании зоны анастомоза, наложенного эвертированным механическим швом и укрытого лоскутом криоконсервированной амниотической мембраны, установлено, что независимо от длительности протекания перитонита и сроков выведения животных из эксперимента менее выражена воспалительная реакция, меньше толщина фиброзного рубца в зоне дефекта стенки кишки и менее интенсивное формирование фиброзных спаек вне зоны повреждения, чем в группах контроля.

Морфологические изменения в зоне ушивания разрыва стенки тонкой кишки в эксперименте показали высокую эффективность в условиях экспериментального перитонита эвертированного механического шва, который укрыт лоскутом криоконсервированной амниотической мембраны.

*Ключевые слова:* тонкая кишка, перитонит, амниотическая мембрана, эвертированный механический шов, фиброз.

**N. V. Zavada, O. E. Volkov, S. N. Ryabtseva, I. A. Shwed**

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

**MORPHOLOGICAL EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF ABDOMINAL ADHESIONS PREVENTION  
WITH NEW INTESTINAL RUPTURE SUTURE IN PERITONITIS (EXPERIMENTAL STUDY)**

We performed an experimental study to compare application of original stappled intestinal suture covered with amniotic membrane and general (standard) intestinal suture methods. Pathogenetic-based blunt abdominal trauma with hydrodynamic stroke intestinal rupture model was used to create each of two conditions: intestinal rupture complicated with 3 hours-last acute peritonitis and intestinal rupture complicated with 24 hours-last acute peritonitis. group 1 – small intestine damage was sutured with a single continuous hand-wound stitches 6–0 (Schmidén's), which was covered by a single-row Lambert stitches, subgroup 2 – with mechanical suture in the transverse direction by the linear stapler device, than it was covered by a single-row serous Lambert stitches, subgroup 3 – an everted mechanical seam was applied in the transverse direction, which was covered with a patch of cryopreserved amniotic membrane. The experimental animals were crucified after intestinal rupture suturing on the 7th, 14th and 30th days. According to growth of fibrous tissue, both in the joint zone and outside it, tendency to abdominal adhesions it turned out, that proposed method reduces adhesions formation intensity in abdominal cavity.

*Keywords:* blunt abdominal trauma, intestinal suture, intestinal rupture model, stappled suture, amniotic membrane, peritonitis, suture leakage, fibrous tissue, abdominal adhesions.

**Введение.** Выбор метода ушивания разрывов тонкой кишки при травмах органов брюшной полости является одной из актуальных проблем современной медицины [1]. Значимость проблемы подчеркивает высокая частота развития несостоятельности наложенных швов в условиях перитонита, достигающая 31 %, а также развитие на тонкой кишке брюшной полости спаечной болезни,

которая у 3–3,5 % из 12–15 % оперированных является причиной повторных операций по поводу спаечной кишечной непроходимости [2, 3]. Процесс образования спаек связывают с воспалением брюшины, балансом между процессами фибриногенеза и фибринолиза [4–6]. Известно, что механическое травмирование брюшины при выполнении интраоперационных манипуляций, наличие физических и химических агентов, инородных тел может приводить к повреждению мезотелиоцитов [7–9]. Ряд исследователей считают, что причиной возникновения спаек является воспаление брюшины [10, 11]. Ушивание кишки в условиях перитонита увеличивает частоту несостоятельности швов и способствует возникновению спаек [12]. Многие исследования направлены на изучение возможности применения различных материалов для повышения механической и биологической герметичности швов с целью профилактики их несостоятельности и образования внутрибрюшных спаек [13–17]. Антибактериальные и иммуномодулирующие свойства амниотической мембраны определяют ее экспериментальное изучение и активное клиническое применение при пластике роговицы, мозговых оболочек, укрытии дефектов кожи, профилактике спаечной болезни органов брюшной полости [18–22]. В доступных нам литературных источниках данных о морфологических свойствах кишечного шва, укрытого амниотической мембраной при повреждении тонкой кишки и развитии перитонита, не обнаружено.

Цель исследования – оценка морфологических изменений в зоне укрытого криоконсервированной амниотической мембраной эвертированного механического шва поврежденной тонкой кишки, наложенного в условиях экспериментального перитонита.

**Материалы и методы исследования.** В условиях операционной под внутримышечной комбинированной анестезией у лабораторных животных (54 белых кролика) выполняли срединную лапаротомию. Моделирование травмы тонкой кишки осуществляли методом гидродинамического удара при помощи разработанного нами оригинального универсального ударного аппарата с регулируемой силой и площадью приложения механического воздействия (рис. 1, *a*).

На выведенную в лапаротомную рану кишку накладывали и затягивали первый (проксимальный) турникет. Дистальнее, на расстоянии 5 см от турникета, иглой в ретроградном направлении в кишку вводили 2–4 мл теплого 0,9 %-ного раствора NaCl до полного расправления кишки. На расстоянии 5 см от проксимального турникета накладывали и затягивали второй (дистальный) турникет. Моделирование закрытой травмы тонкой кишки выполняли при помощи разработанного нами оригинального универсального ударного аппарата с регулируемой силой и площадью приложения механического воздействия. Аппарат выполнен из стали и состоит из столика (неподвижная часть), отбойника с направляющим стержнем и грузами (подвижная часть), а также системы цельных и полых стержней с фиксаторами (ограничитель). Сила его воздействия регулируется

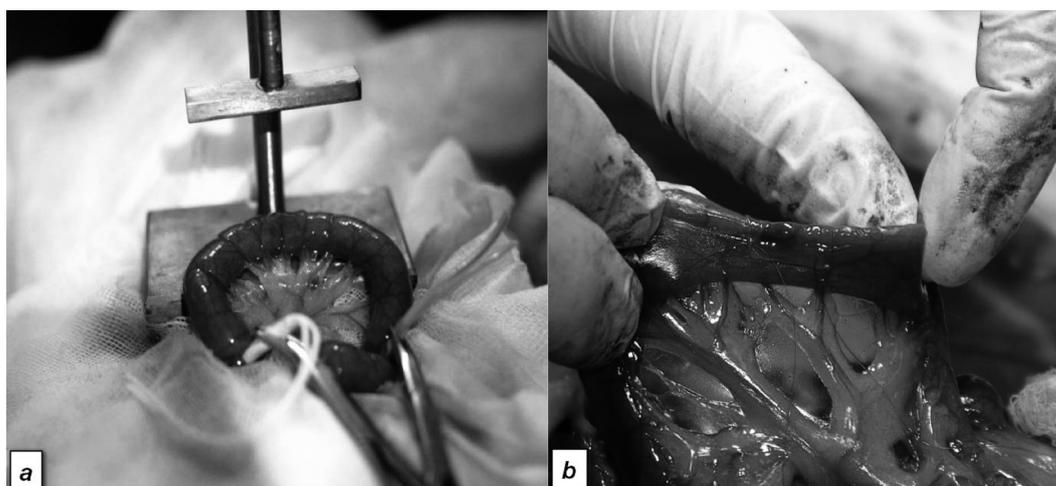


Рис. 1. Экспериментальное повреждение стенки кишки: *a* – расположение тонкой кишки кролика в ударном механизме, *b* – наложение на эвертированный механический шов амниотической мембраны

Fig. 1. Experimental rupture of the intestinal wall: *a* – location of the rabbit's small intestine in the striking mechanism, *b* – stitching of the amniotic membrane on the everted mechanical suture

изменением массы и высоты падения отбойника. Для предотвращения сдавливания стенок кишки в момент удара между поверхностью отбойника и столиком выставляли зазор – 1,5 мм.

После моделирования разрыва петлю тонкой кишки помещали в брюшную полость, которую затем закрывали узловыми швами. Животные были разделены на две группы. В группе ПЗ ре-лапаротомию и ушивание кишки выполняли через 3 ч после первой операции, в группе П24 – через 24 ч после повреждения кишки.

В каждой из двух групп в зависимости от метода ушивания кишки выделены три подгруппы:

подгруппа РШ – поврежденную тонкую кишку ушивали с помощью нити 6-0 однорядным непрерывным вворачивающим ручным швом (шов Шмидена), который укрывали однорядным серозным швом Ламбера;

подгруппа СТ – повреждение тонкой кишки ушивали эвертированным механическим швом в поперечном направлении линейным аппаратом УКЛ-40, а эвертированный шов укрывали однорядным серозным швом Ламбера;

подгруппа СТ + АМ – накладывали эвертированный механический шов в поперечном направлении, который укрывали лоскутом криоконсервированной амниотической мембраны. Для этого независимо от формы разрыва кишки у противоположенных участков раны накладывали серозно-мышечные швы-держалки с таким расчетом, чтобы через места их фиксации проходила прямая, принадлежащая плоскости, перпендикулярной оси кишечной трубки. Швы накладывали атравматическим шовным материалом. Кишку растягивали в поперечном направлении и за держалки приподнимали вверх в виде шатра. Сопоставляли края раны так, чтобы противоположные стенки кишки соприкасались слизистыми. Отступив 5 мм от края раны, подводили бранши линейного механического аппарата УКЛ-40 так, чтобы каждая скоба при прошивании проходила через все слои кишечной стенки в порядке: сероза–слизистая–слизистая–сероза. Прошивали кишку. Отсекали ткани сразу над линией механического шва вместе с держалками. Линию шва укрывали амниотической мембраной. Форму и размер лоскута моделировали в соответствии с ушитым разрывом кишки таким образом, чтобы края мембраны отступали от линии шва на 5 мм. Мембрану фиксировали к кишке узловыми серозными швами атравматическим шовным материалом по углам, а ее края дополнительно фиксировали серозными узловыми швами (рис. 1, б).

Животных выводили из эксперимента на 7, 14 и 30-е сутки путем передозировки средств для наркоза. Фрагмент кишки со швом и прилежащими зонами иссекали, фиксировали в 10 %-ном растворе формалина для приготовления гистологических препаратов. После фиксации и промывки в проточной воде фрагменты ткани обезвоживали в спиртах восходящей концентрации (50, 60, 70, 80, 96 %), просветляли в ксилоле и заливали в смесь парафина и пчелиного воска для изготовления парафиновых блоков. Далее готовили серийные срезы толщиной 4–5 мкм. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике, а для гистохимической окраски соединительной ткани использовали трихром.

Толщину фиброзной ткани в зоне рубца и фиброзных образований со стороны серозной оболочки стенки вне зоны основного повреждения тонкой кишки измеряли при помощи приложения Line measurements программы анализа изображений Bioscan NT. Для проведения морфометрического исследования микропрепараты фотографировали в трех полях зрения ( $\times 40$ ) при помощи микроскопа фирмы Zeiss и цифровой камеры Canon Power Shot G3 с разрешением  $2048 \times 1536$  пкс. Базы данных с результатами морфометрических исследований формировали с помощью MS Excel.

Для статистической обработки полученных данных использовали программу STATISTICA (StatSoft) и непараметрические методы: при сравнении двух независимых групп –  $U$ -критерий Манна–Уитни ( $p < 0,05$ ), при сравнении более двух независимых групп –  $H$ -критерий Краскала–Уоллиса ( $p < 0,05$ ).

**Результаты и их обсуждение. Группа ПЗ.** При моделировании 3-часового перитонита на 7-е сутки после повторной операции в стенке тонкой кишки животных каждой подгруппы в зоне повреждения отмечалось формирование соединительнотканного рубца. В области рубца тонкой кишки РШ-подгруппы наблюдалось разрастание фиброзной ткани с формированием кистозной полости без эпителиальной выстилки, соединительная ткань была инфильтрирована лимфоцитами, плазмócитами, в меньшей степени – сегментоядерными нейтрофилами (признаки хрониче-

ского воспаления с серозно-гношной инфильтрацией). В СТ-подгруппе рубец представлял собой фиброзную ткань с лимфо-плазмоцитарной инфильтрацией и примесью небольшого количества сегментоядерных нейтрофилов со сформированными мелкими кисточками. В СТ + АМ-подгруппе фиброзная ткань рубца была густо наполнена полиморфно-клеточным инфильтратом клеток воспаления, в котором преобладали сегментоядерные нейтрофилы (признаки хронического воспаления с нагноением), а в стенке тонкой кишки формировались субэпителиальные кистозные полости без эпителиальной выстилки.

Средняя толщина фиброзной ткани в области рубца на 7-е сутки после ушивания тонкой кишки была выше в СТ + АМ-подгруппе, меньших размеров – в РШ-подгруппе и минимальной толщины – в СТ-подгруппе (табл. 1).

Таблица 1. Толщина фиброзных разрастаний стенки тонкой кишки в различные сроки выведения животных из эксперимента при моделировании 3-часового перитонита

Table 1. Thickness of the fibrous mass in the intestinal wall during different periods of removing animals from experiment for 3 hour peritonitis modeling

Время выведения животных из опыта и локализация фиброзной ткани		Толщина, пкс, Ме (P25; P75)			p
		РШ	СТ	СТ + АМ	
7-е сутки	Зона шва	687,4 (610; 715)	288,4 (166; 347)	815,7 (629; 919)	* $p_{1-2-3} = 0,0003$ , ** $p_{1-2} = 0,000082$ ** $p_{1-3} = 0,001152$ , ** $p_{2-3} = 0,000082$
	Вне зоны шва	1111,5 (947; 1152)	133,5 (120; 141)	26,7 (21; 41)	** $p_{1-2-3} = 0,0001$ , ** $p_{1-2} = 0,001293$ ** $p_{1-3} = 0,000082$ , ** $p_{2-3} = 0,000082$
14-е сутки	Зона шва	931,0 (894; 979)	597,0 (462; 626)	333,7 (196; 412)	* $p_{1-2-3} < 0,0000$ , ** $p_{1-2} = 0,000082$ ** $p_{1-3} = 0,000082$ , ** $p_{2-3} = 0,000501$
	Вне зоны шва	614,6 (521; 629)	397,9 (376; 418)	14,1 (12; 28)	* $p_{1-2-3} < 0,000$ , ** $p_{1-2} = 0,000082$ ** $p_{1-3} = 0,000082$ , ** $p_{2-3} = 0,000082$
30-е сутки	Зона шва	750,6 (695; 778)	498,6 (447; 560)	371,9 (274; 461)	* $p_{1-2-3} < 0,0000$ , ** $p_{1-2} = 0,000082$ ** $p_{1-3} = 0,000082$ , ** $p_{2-3} = 0,003128$
	Вне зоны шва	385,7 (346; 421)	390,4 (332; 426)	50,3 (42; 62)	* $p_{1-2-3} = 0,0004$ , ** $p_{1-2} = 0,947645$ ** $p_{1-3} = 0,000082$ , ** $p_{2-3} = 0,000082$

Примечание. РШ – ручной шов, СТ – степлерный шов, СТ + АМ – степлерный шов + амниотическая мембрана. \* – Kruskal–Wallis test, \*\* – Mann–Whitney U-test. Те же обозначения в табл. 2.

Вне зоны повреждения стенки тонкой кишки также отмечалось формирование соединительной ткани в виде диффузного утолщения серозного слоя стенки кишки и/или прилежащей клетчатки с разной степенью выраженности полиморфноклеточной инфильтрации во всех подгруппах животных. При этом фиброзирование серозного слоя стенки тонкой кишки в СТ + АМ-подгруппе практически полностью отсутствовало. Зона фиброзирования была почти незаметна в препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, но четко прослеживалась при специфической окраске трихромом. Более грубые разрастания фиброзной ткани выявлены в стенке тонкой кишки животных РШ-подгруппы.

Таким образом, на 7-е сутки более грубый рубец в зоне повреждения выявлен в стенке животных РШ- и СТ + АМ-подгрупп, наименьших размеров рубец был в СТ-подгруппе. Тенденция к формированию фиброзных спаек вне зоны повреждения кишки отмечалась во всех подгруппах, но при этом она преобладала в РШ-подгруппе и была минимальной в СТ + АМ-подгруппе. При статистической обработке данных установлено, что фиброзирование серозного слоя стенки толстой кишки вне зоны повреждения преобладало в РШ-подгруппе и было ниже в СТ + АМ-подгруппе (табл. 1).

На 14-е сутки после ушивания разрыва кишки в РШ-подгруппе в зоне рубца имели место разрастание фиброзной ткани, формирование серозных кист и кистозных полостей без эпителиальной выстилки с гигантоклеточной инфильтрацией по периферии, слабая инфильтрация лимфоцитами и плазмócитами соединительнотканного рубца. В СТ-подгруппе рубец был сформирован фиброзной тканью, лимфо-плазмоцитарная инфильтрация которой была также минимальной. В стенке тонкой кишки СТ + АМ-подгруппы фиброзная ткань рубца была представлена грубо-

волокнистой соединительной тканью с лимфо-плазмоцитарной инфильтрацией и гигантоклеточными гранулемами инородных тел, без кистозных образований. Средняя толщина фиброзной ткани в области рубца тонкой кишки была выше в РШ-подгруппе, меньших размеров – в СТ-подгруппе, минимальной толщины – в СТ + АМ-подгруппе (табл. 1).

Вне зоны повреждения стенки тонкой кишки также отмечалось формирование соединительной ткани в виде диффузного утолщения серозного слоя стенки кишки и/или прилежащей клетчатки с минимальной лимфо-плазмоцитарной инфильтрацией преимущественно во всех изучаемых подгруппах. Наиболее грубые разрастания фиброзной ткани в серозном слое выявлены в РШ-подгруппе. В СТ + АМ-подгруппе фиброзирование серозного слоя стенки тонкой кишки практически полностью отсутствовало. Зона фиброзирования была почти незаметна в препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, но четко прослеживалась при специфической окраске трихромом. На 14-е сутки более грубый рубец в зоне повреждения стенки кишки выявлен в РШ-подгруппе, наименьших размеров рубец был в СТ-подгруппе. Тенденция к формированию фиброзных спаек вне зоны повреждения кишки в области тонкой кишки была минимальной в СТ + АМ-подгруппе. Утолщение серозного слоя за счет разрастания фиброзной ткани и формирования соединительнотканых спаек в стенке тонкой кишки преобладало в РШ-подгруппе и было минимальным в СТ + АМ-подгруппе (табл. 1).

На 30-е сутки после выполнения повторных операций в РШ-подгруппе в зоне рубца тонкой кишки отмечалось разрастание фиброзной ткани со скудной лимфо-плазмоцитарной инфильтрацией и формированием гигантоклеточных гранул с кистозной полостью в центре (рис. 2, *a*). В стенке тонкой кишки со стороны слизистой оболочки выявлены склеротические изменения в виде кистозной трансформации желез в зоне рубца. В СТ-подгруппе рубец был представлен пол-

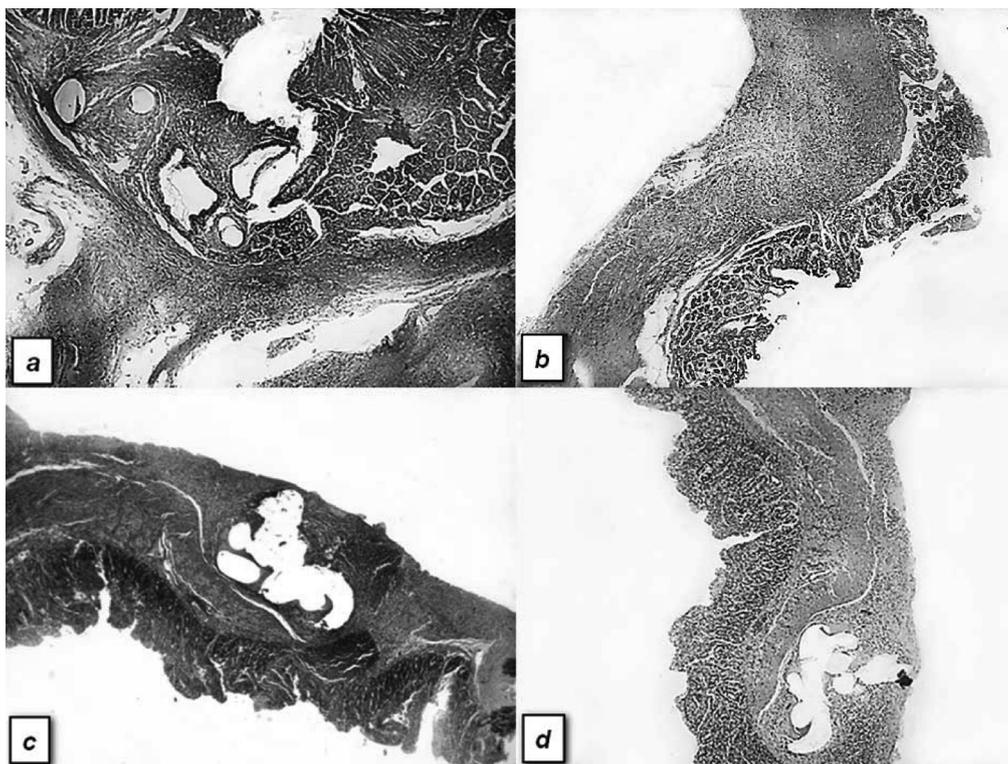


Рис. 2. Изменения стенки тонкой кишки в зоне повреждения на 30-е сутки после ушивания в группе с 3-часовым перитонитом: *a* – стенка тонкой кишки в РШ-подгруппе (гематоксилин и эозин,  $\times 40$ ), *b* – фиброзный рубец в стенке тонкой кишки в СТ-подгруппе (трихром,  $\times 40$ ), *c* – стенка тонкой кишки в СТ + АМ-подгруппе (гематоксилин и эозин,  $\times 40$ ), *d* – стенка тонкой кишки в СТ + АМ-подгруппе (трихром,  $\times 40$ )

Fig. 2. Changes in the small intestine wall in the damage zone on the 30th day after its suturing in the 3 hour peritonitis group: *a* – intestinal wall of the RSH-subgroup (hemotoxin and eosin,  $\times 40$ ), *b* – fibrous scar in the intestine wall of the CT-subgroup (trichromatic coloring,  $\times 40$ ), *c* – intestinal wall of the CT + AM-subgroup (hemotoxin and eosin,  $\times 40$ ), *d* – intestinal wall of the CT + AM-subgroup (trichromatic coloring,  $\times 40$ )

ностью сформированной фиброзной тканью со скудной лимфо-плазмоцитарной инфильтрацией (рис. 2, *b*). В СТ + АМ-подгруппе фиброзная ткань рубца была очагово инфильтрирована лимфоцитами и лимфоидными фолликулами. В зоне рубцовых изменений стенки кишки в данной подгруппе отмечалось формирование гигантоклеточных гранулем инородных тел и наличие (или отсутствие) в центре кистозных полостей фрагментов амниотической мембраны внутри (рис. 2, *c, d*).

В группе ПЗ средняя толщина фиброзной ткани в области рубца тонкой кишки на 30-е сутки после повторной операции была выше в РШ-подгруппе, меньших размеров – в СТ-подгруппе, минимальной толщины – в СТ + АМ-подгруппе (см. табл. 1).

Вне зоны повреждения кишки во всех подгруппах животных также отмечались формирование соединительной ткани в виде диффузного утолщения серозного слоя стенки кишки и/или прилежащей клетчатки и слабо выраженная круглоклеточная инфильтрация. При этом имело место незначительное фиброзирование серозного слоя тонкой кишки вне зоны повреждения в СТ + АМ-подгруппе. Зона фиброирования четко прослеживалась при специфической окраске трихромом. Утолщение серозного слоя за счет разрастания фиброзной ткани и формирование соединительнотканых спаек преобладало также в стенке тонкой кишки в РШ-подгруппе и было минимальным в СТ + АМ-подгруппе. На 30-е сутки более грубый рубец в стенке в зоне повреждения выявлен в РШ-подгруппе, наименьших размеров рубец – в СТ- и СТ + АМ-подгруппах. Тенденция к формированию фиброзных спаек вне зоны повреждения кишки отмечалась во всех подгруппах, но при этом она преобладала в РШ-подгруппе и была минимальной в области толстой и тонкой кишки в СТ + АМ-подгруппе (табл. 1).

При статистической обработке данных установлено достоверное статистически значимое различие как по толщине формирования фиброзного рубца в зоне повреждения в различные сроки выведения животных из эксперимента в подгруппах, так и по формированию фиброзных спаек вне зоны повреждения. Кроме того, при применении ручного шва отмечалось более выраженное фиброзирование с формированием наибольшего по толщине рубца, чем в остальных подгруппах, независимо от сроков выведения животных из опыта. Аналогичная тенденция выявлена в отношении разрастания фиброзной ткани по висцеральной брюшине кишечника вне зоны повреждения: толщина фиброзных разрастаний вне зоны шва преобладала в РШ-подгруппе (табл. 1).

При моделировании 3-часового перитонита на фоне повреждения целостности стенки кишки с последующим закрытием раны стенки кишки ручным швом наблюдалось выраженное разрастание фиброзной ткани как в зоне шва, так и за его пределами. При использовании механического шва отмечалось снижение фиброирования висцеральной брюшины как в зоне рубца, так и вне ее. Достоверное снижение разрастаний фиброзной ткани вне зоны повреждения при модификации механического шва с амниотической мембраной свидетельствует об отграничении процесса фиброирования в зоне рубца.

**Группа П24.** При моделировании суточного перитонита на 7-е сутки после наложения шва в стенке кишки животных каждой подгруппы в зоне повреждения отмечалось формирование соединительнотканного рубца. В РШ-подгруппе в зоне рубца тонкой кишки наблюдалось разрастание фиброзной ткани с формированием кистозных полостей без эпителиальной выстилки (гранулемы вокруг инородных тел), соединительная ткань была инфильтрирована лимфоцитами, плазмócитами и преимущественно сегментоядерными нейтрофилами. В СТ-подгруппе рубец был представлен отечной фиброзной тканью с выраженной лейкоцитарной инфильтрацией и примесью единичных лимфоцитов и плазмócитов. В СТ + АМ-подгруппе фиброзная ткань рубца была густо инфильтрирована сегментоядерными нейтрофилами с примесью лимфоцитов и плазмócитов в незначительном количестве и сформированными субэпителиальными гигантоклеточными гранулемами инородных тел в виде мелких кистозных полостей. При этом инфильтрация в глубоких отделах серозного слоя была более выраженной и была сохранена амниотическая оболочка, с наружной стороны которой также отмечалось формирование фиброзной отечной ткани с менее выраженной полиморфноклеточной инфильтрацией. Средняя толщина фиброзной ткани в области рубца тонкой кишки на 7-е сутки была выше в СТ-подгруппе, меньших размеров – в РШ-подгруппе, минимальной толщины – в СТ + АМ-подгруппе (табл. 2).

Таблица 2. Толщина фиброзных разрастаний в стенке тонкой кишки в различные сроки выведения животных из опыта при моделировании суточного перитонита

Table 2. Thickness of the fibrous mass in the intestinal wall during different periods of removing animals from experiment in subgroups for daily peritonitis modeling

Время выведения животных из опыта и локализация фиброзной ткани		Толщина, пкс, Ме (P25; P75)			p
		РШ	СТ	СТ + АМ	
7-е сутки	Зона шва	496,7 (466; 509)	498,6 (447; 560)	301,1 (286; 308)	$^*p_{1-2-3} = 0,0000$ , $^{**}p_{1-2} = 0,645764$ $^{**}p_{1-3} = 0,000082$ , $^{**}p_{2-3} = 0,000082$
	Вне зоны шва	390,4 (332; 426)	138,7 (122; 145)	132,1 (96; 150)	$^*p_{1-2-3} = 0,0000$ , $^{**}p_{1-2} = 0,000082$ $^{**}p_{1-3} = 0,000082$ , $^{**}p_{2-3} = 0,792813$
14-е сутки	Зона шва	239,0 (190; 265)	142,3 (127; 148)	238,0 (255; 246)	$^*p_{1-2-3} = 0,0001$ , $^{**}p_{1-2} = 0,000304$ $^{**}p_{1-3} = 0,947645$ , $^{**}p_{2-3} = 0,000304$
	Вне зоны шва	125,5 (118; 153)	57,7 (52; 69)	28,6 (24; 36)	$^*p_{1-2-3} < 0,0000$ , $^{**}p_{1-2} = 0,000082$ $^{**}p_{1-3} = 0,000082$ , $^{**}p_{2-3} = 0,00014$
30-е сутки	Зона шва	389,7 (326; 435)	122,2 (103; 132)	180,9 (141; 251)	$^*p_{1-2-3} = 0,0000$ , $^{**}p_{1-2} = 0,000236$ $^{**}p_{1-3} = 0,001026$ , $^{**}p_{2-3} = 0,000501$
	Вне зоны шва	166,8 (155; 183)	104,9 (91; 108)	32,1 (28; 40)	$^*p_{1-2-3} < 0,0000$ , $^{**}p_{1-2} = 0,000082$ $^{**}p_{1-3} = 0,000082$ , $^{**}p_{2-3} = 0,000082$

Вне зоны повреждения стенки кишки на 7-е сутки после повторной операции во всех подгруппах животных со стороны серозного слоя также отмечалось формирование соединительной ткани в виде диффузного утолщения серозного слоя стенки кишки и/или прилежащей клетчатки и умеренно выраженная полиморфноклеточная инфильтрация. Более грубые разрастания фиброзной ткани выявлены в стенке тонкой кишки в РШ-подгруппе. Утолщение серозного слоя за счет разрастания фиброзной ткани и формирование соединительнотканых спаек преобладало в стенке тонкой кишки в РШ-подгруппе и было минимальным в СТ + АМ-подгруппе. На 7-е сутки более грубый рубец в зоне повреждения выявлен в стенке тонкой кишки в СТ-подгруппе, наименьших размеров рубец – в СТ + АМ-подгруппе. Тенденция к формированию фиброзных спаек вне зоны повреждения кишки преобладала в РШ-подгруппе, но была минимальной в области тонкой кишки в СТ + АМ-подгруппе.

На 14-е сутки после ушивания кишки в зоне рубца тонкой кишки в РШ-подгруппе отмечалось разрастание фиброзной ткани и формирование кистозной полости без эпителиальной выстилки (гигантоклеточные гранулемы инородных тел), соединительная ткань была слабо инфильтрирована лимфоцитами и плазмócитами. В СТ-подгруппе рубец был представлен зрелой фиброзной тканью. В СТ + АМ-подгруппе выявлено формирование гигантоклеточных гранул без кистозной полости в центре, амниотическая мембрана не определялась. В отдельных случаях фиброзный рубец был представлен зрелой соединительной тканью. Воспалительная инфильтрация рубца была минимальной во всех исследованных подгруппах. Средняя толщина фиброзной ткани в области рубца тонкой кишки на 7-е сутки была выше в СТ + АМ-подгруппе, меньших размеров – в РШ-подгруппе, минимальной толщины – в СТ-подгруппе (табл. 2).

Вне зоны повреждения стенки кишки на 14-е сутки после повторного оперативного вмешательства со стороны серозного слоя также отмечалось формирование соединительной ткани в виде диффузного утолщения серозного слоя стенки кишки и/или прилежащей клетчатки и минимальная круглоклеточная инфильтрация во всех подгруппах животных. При этом фиброзирование серозного слоя стенки тонкой кишки в СТ + АМ-подгруппе практически полностью отсутствовало. Зона фиброзирования была почти незаметна в препарате, окрашенном гематоксилином и эозином, но четко прослеживалась при специфической окраске трихромом. Более грубые разрастания фиброзной ткани выявлены в стенке толстой кишки в РШ-подгруппе. На 14-е сутки более грубый рубец в зоне повреждения выявлен в стенке тонкой кишки в СТ + АМ-подгруппе, наименьших размеров рубец – в СТ-подгруппе. Тенденция к формированию фиброзных спаек вне зоны повреждения кишки была минимальной в области тонкой кишки в СТ + АМ-подгруппе.

На 30-е сутки после операции в зоне рубца тонкой кишки в РШ-подгруппе отмечалось разрастание фиброзной ткани и формирование кистозных полостей без эпителиальной выстилки

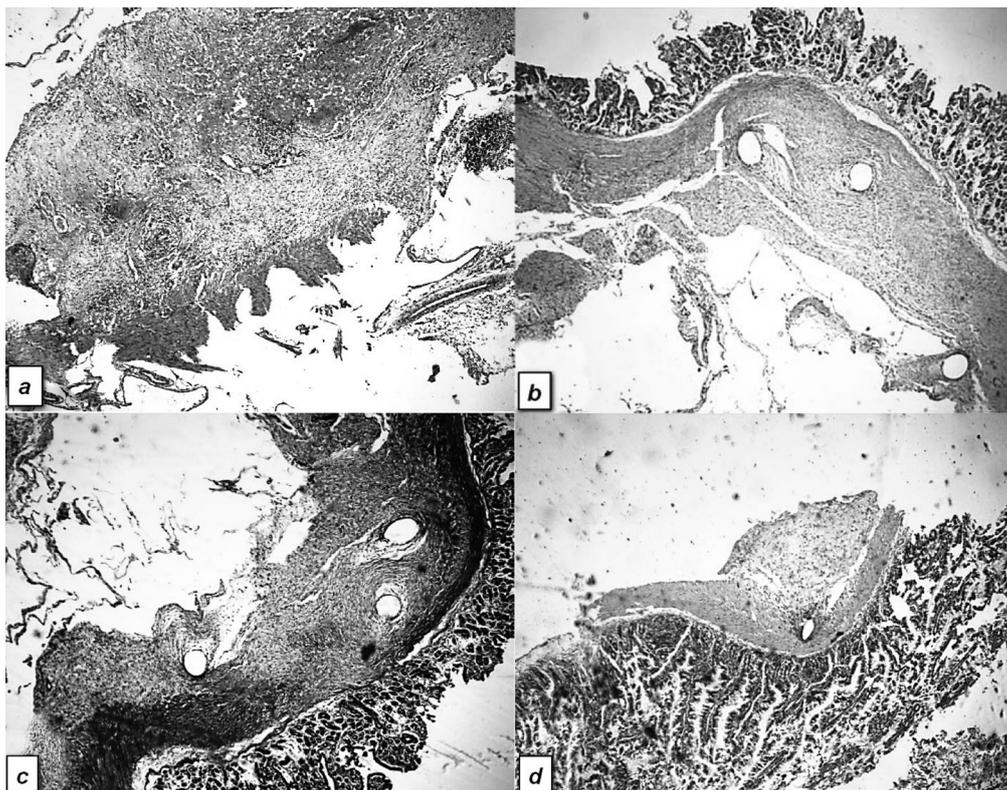


Рис. 3. Изменения стенки тонкой кишки в зоне повреждения на 30-е сутки в группе с суточным перитонитом: *a* – стенка тонкой кишки в РШ-подгруппе (гематоксилин-эозин, ×40), *b* – стенка тонкой кишки в СТ-подгруппе (гематоксилин-эозин, ×40), *c* – тот же фрагмент (трихром, ×40), *d* – стенка тонкой кишки в СТ + АМ-подгруппе (гематоксилин-эозин, ×40)

Fig. 3. Changes in the intestinal wall in the damage zone on the 30th day in the daily peritonitis groups: *a* – intestinal wall of the PSH-subgroup (hemotoxin and eosin, ×40), *b* – intestinal wall of the CT-subgroup (hemotoxin and eosin, ×40), *c* – same fragment (trichromatic coloring, ×40), *d* – intestinal wall of the –subgroup (hemotoxin and eosin, ×40)

(гигантоклеточные гранулемы), соединительная ткань была слабо инфильтрирована лимфоцитами и плазмочитами (рис. 3, *a*). В СТ-подгруппе рубец также был представлен зрелой фиброзной тканью со скудной лимфо-плазмочитарной инфильтрацией и мелкими кистозными гигантоклеточными гранулемами инородных тел (рис. 3, *b, c*). В зоне повреждения кишечника в СТ + АМ-подгруппе выявлены двойкие изменения. В одних случаях рубцовая ткань была представлена зрелой однородной соединительной тканью со скудной лимфоцитарной инфильтрацией и формированием лимфоидных фолликулов. В других наблюдениях (большинстве) рубец в зоне повреждения был представлен зрелой соединительной тканью с гигантоклеточными гранулемами инородных тел и кистозной полостью или без таковой, в центре гранулем определялись фрагменты амниотической мембраны (рис. 3, *d*).

Средняя толщина фиброзной ткани на 30-е сутки после повторной операции в области рубца тонкой кишки была выше в РШ-подгруппе, меньших размеров – в СТ + АМ-подгруппе, минимальной толщины – в СТ-подгруппе (см. табл. 2).

Разрастание фиброзной ткани в области серозного слоя и клетчатки стенки тонкой кишки вне зоны повреждения наблюдалось преимущественно в РШ-подгруппе. Инфильтрация соединительной ткани была минимальной и представлена лимфоцитами и плазмочитами. Фиброзирование серозного слоя стенки тонкой кишки в СТ + АМ-подгруппе было минимальным. Зона фиброза практически была незаметна в препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином. Утолщение серозного слоя за счет разрастания фиброзной ткани и формирование соединительнотканых спаек в стенке тонкой кишки преобладало в РШ-подгруппе и было минимальным в СТ + АМ-подгруппе (табл. 2). На 30-е сутки более грубый рубец в зоне повреждения стенки тонкой кишки выявлен в РШ-подгруппе, наименьших размеров рубец – в СТ-подгруппе. Тенденция к формированию

фиброзных спаек вне зоны повреждения кишки отмечалась у животных всех подгрупп, при этом она преобладала в РШ-подгруппе и была минимальной в СТ + АМ-подгруппе.

При статистической обработке полученных данных установлено достоверное статистически значимое различие как по толщине формирования фиброзного рубца в зоне повреждения тонкой кишки в различные сроки после выведения животных всех подгрупп из опыта, так и по формированию фиброзных септ вне зоны повреждения. Кроме того, при ушивании кишки ручным способом отмечалось более выраженное фиброзирование и формирование наибольшего по толщине рубца, чем в остальных подгруппах. Анализ фиброзирования висцеральной брюшины вне зоны повреждения тонкой кишки показал, что в РШ-подгруппе толщина фиброзных разрастаний преобладает независимо от сроков выведения животных из опыта (табл. 2).

При моделировании 24-часового перитонита на фоне повреждения целостности стенки кишки с последующим закрытием раны ручным швом наблюдалось выраженное разрастание фиброзной ткани как в зоне шва, так и за его пределами. При использовании механического шва отмечалось снижение фиброзирования висцеральной брюшины как в зоне рубца, так и вне ее. Достоверное снижение разрастаний фиброзной ткани вне зоны повреждения при модификации механического шва с амниотической мембраной свидетельствует об отграничении процесса фиброзирования в зоне рубца, т. е. об отграничении спаечного процесса в зоне повреждения и восстановления стенки кишки.

### Выводы

1. Моделирование разрыва тонкой кишки разработанным нами методом гидродинамического удара дало возможность эффективно воспроизвести перитонит на различных стадиях, что позволило изучить характер повреждений в месте разрыва и дать оценку способам их хирургического лечения.

2. В месте повреждения тонкой кишки, независимо от применения изученных нами способов ушивания разрыва и сроков развития экспериментального перитонита, в зоне операции наблюдались воспалительные изменения с формированием соединительнотканного рубца.

3. При применении эвертированного механического шва, укрытого лоскутом криоконсервированной амниотической мембраны, выявлены статистически достоверно меньшая по сравнению с результатами исследования в контрольных группах толщина фиброзного рубца в зоне дефекта стенки кишки и менее выраженное формирование фиброзных спаек вне зоны повреждения кишки независимо от длительности перитонита и сроков выведения животных из эксперимента.

4. Морфологические изменения в зоне ушивания разрыва стенки тонкой кишки в эксперименте показали высокую эффективность эвертированного механического шва, который укрыт лоскутом криоконсервированной амниотической мембраны, в условиях экспериментального перитонита.

### Список использованных источников

1. Завада, Н. В. Диагностика и лечение повреждений тонкой и толстой кишки при изолированной и сочетанной травме живота / Н. В. Завада, О. Е. Волков // Экстрен. медицина. – 2014. – № 3. – С. 80–98.
2. Запорожец, А. А. Причины возникновения спаек брюшины после первичных асептических операций на желудочно-кишечном тракте и метод их профилактики / А. А. Запорожец // Вестн. хирургии им. И. И. Грекова. – 2011. – Т. 170, № 2. – С. 14–20.
3. Тотчиев, Г. Ф. Спаечная болезнь: физиологические аспекты, механизмы предупреждения / Г. Ф. Тотчиев // Эффектив. фармакотерапия. – 2013. – № 28. – С. 18–21.
4. Plasminogen activators and inhibitors in peritoneal tissue / L. Holmdahl [et al.] // APMIS. – 1997. – Vol. 105, suppl. 1. – P. 25–30.
5. Raftery, A. T. Effect of peritoneal trauma on peritoneal fibrinolytic activity and intraperitoneal adhesion formation. An experimental study in the rat / A. T. Raftery // Eur. Surg. Res. – 1981. – Vol. 13, N 6. – P. 397–401.
6. Human intraperitoneal fibrinolytic response to elective surgery / D. Scott-Coombes [et al.] // Br. J. Surg. – 1995. – Vol. 82, N 3. – P. 414–417.
7. Mutsaers, S. E. Mesothelial cells: their structure, function and role in serosal repair / S. E. Mutsaers // Respirology. – 2002. – Vol. 7, N 3. – P. 171–191.
8. Mutsaers, S. E. The mesothelial cell / S. E. Mutsaers // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2004. – Vol. 36, N 1. – P. 9–16.
9. Качуровский, И. С. О дренировании брюшной полости / И. С. Качуровский // Клини. хирургия. – 1986. – № 1. – С. 63.

10. The histophysiology and pathophysiology of the peritoneum / J. O. van Baal [et al.] // *Tissue Cell*. – 2017. – Vol. 49 (1). – P. 95–105.
11. Di Zerega, G. S. Peritoneum, peritoneal healing and adhesion formation / G. S. Di Zerega, J. D. Campeau // *Peritoneal*. – NY: Springer-Verlag; Berlin: Heilderbergh, 2006. – P. 3–38.
12. Kamel, R. M. Prevention of postoperative peritoneal adhesions / R. M. Kamel // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2010. – Vol. 150, N 2. – P. 111–118.
13. Effects of topical treatment with euphorbia tirucalli latex on the survival and intestinal adhesions in rats with experimental peritonitis / L. A. de Araújo // *Arq. Bras. Cir. Dig.* – 2015. – Vol. 28 (4). – P. 243–246.
14. Effects of hydrophilic polyethylene glycol-based adhesion barrier use to prevent intra-abdominal adhesions in intra-abdominal sepsis model / G. S. Ozbalci [et al.] // *Indian J. Surg.* – 2015. – Vol. 77 (suppl. 2). – P. 398–402.
15. Возможности, результаты и перспективы укрепления кишечных швов фибрин-коллагеновой субстанцией «ТахоКомб» / Б. К. Шуркалин [и др.] // *Хирургия*. – 2004. – № 2. – С. 53–55.
16. Effect of the combination of fibrin glue and growth hormone on intestinal anastomoses in a pig model of traumatic shock associated with peritonitis / P. Wang [et al.] // *World J. Surg.* – 2009. – Vol. 33, N 3. – P. 567–576.
17. Influence of lipid membrane rigidity on properties of supporting polymer / M. S. Jablin [et al.] // *Biophys. J.* – 2011. – Vol. 101, N 1. – P. 128–133.
18. Amniotic membrane: from structure and functions to clinical applications / A. Mamede [et al.] // *Cell Tissue Res.* – 2012. – Vol. 349, N 2. – P. 447–458.
19. The clinical applications of human amnion in plastic surgery / N. Fairbairn [et al.] // *J. Plast. Reconstr. aesthetic Surg.* – 2014. – Vol. 67. – P. 662–675.
20. Amniotic membrane and amniotic cells: Potential therapeutic tools to combat tissue inflammation and fibrosis? / U. Manuelpillai [et al.] // *Placenta*. – 2011. – Vol. 32, N 4. – P. S320–S325.
21. Applications of amniotic membrane and fluid in stem cell biology and regenerative medicine / K. Rennie [et al.] // *Stem Cells Int.* – 2012. – Vol. 2012. – Article ID 721538.
22. Covering the colon anastomoses with amniotic membrane prevents the negative effects of early intraperitoneal 5-FU administration on anastomotic healing / M. Uludag [et al.] // *Int. J. Colorectal Dis.* – 2010. – Vol. 25, N 2. – P. 223–232.

## References

1. Zavada N. V., Volkov O. E. Small and large bowel ruptures management in isolated and combined trauma. *Ekstrennaia meditsina* [Emergency Medicine], 2014, no. 3, pp. 80–98. (in Russian).
2. Zaporozhets A. A. Abdominal adhesions causes after gastrointestinal aseptic operations and preventions methods. *Vestnik hirurgii imeni I. I. Grekova* [Surgery News after I. I. Grekov], 2011, vol. 170, no. 2, pp. 14–20. (in Russian).
3. Totchiev, G. F. Abdominal adhesions, physiology, preventions methods. *Effektivnaia farmakopiia* [Effective Farmakotherapy], 2013, no. 28, pp. 18–21. (in Russian).
4. Holmdahl L., Falkenberg M., Ivarson M., Risberg B. Plasminogen activators and inhibitors in peritoneal tissue. *Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, 1997, vol. 105, suppl. 1, pp. 25–30. doi: 10.1111/j.1699-0463.1997.tb00535.x.
5. Raftery A. T. Effect of peritoneal trauma on peritoneal fibrinolytic activity and intraperitoneal adhesion formation. An experimental study in the rat. *European Surgical Research*, 1981, vol. 13, no. 6, pp. 397–401. doi: 10.1159/000128208.
6. Scott-Coombes D., Whawell S., Vipond M., Thompson J. Human intraperitoneal fibrinolytic response to elective surgery. *British Journal of Surgery*, 1995, vol. 82, no. 3, pp. 414–417. doi: 10.1002/bjs.1800820346.
7. Mutsaers S. E. Mesothelial cells: their structure, function and role in serosal repair. *Respirology*, 2002, vol. 7, no. 3, pp. 171–191.
8. Mutsaers S. E. The mesothelial cell. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 2004, vol. 36, no. 1, pp. 9–16.
9. Kachurovskii I. S. About abdominal drainage. *Klinicheskaiia khirurgiia* [Clinical Surgery], 1986, no. 1, pp. 63. (in Russian).
10. Van Baal J. O. The histophysiology and pathophysiology of the peritoneum. *Tissue Cell*, 2017, vol. 49, no. 1, pp. 95–105. doi: 10.1016/j.tice.2016.11.004.
11. Di Zerega G. S. Peritoneum, peritoneal healing and adhesion formation. *Peritoneal*. NY: Springer-Verlag, BerlinHeilderbergh, 2006, pp. 3–38.
12. Kamel R. M. Prevention of postoperative peritoneal adhesions. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 2010, vol. 150, no. 2, pp. 111–118. doi: 10.1016/j.ejogrb.2010.02.003.
13. De Araújo L. A. Effects of topical treatment with euphorbia tirucalli latex on the survival and intestinal adhesions in rats with experimental peritonitis. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*, 2015, vol. 28, no. 4, pp. 243–246. doi: 10.1590/S0102-6720201500040006.
14. Ozbalci G. S. Effects of hydrophilic polyethylene glycol-based adhesion barrier use to prevent intra-abdominal adhesions in intra-abdominal sepsis model. *Indian Journal of Surgery*, 2015, vol. 77 (suppl. 2), pp. 398–402. doi: 10.1007/s12262-013-0852-1.
15. Shurkalin B. K., Gorskii V. A., Volenko A. V., Andreyev S. S., Leonenko I. V., Il'in V. A., Faller A. P. Reasons, results, and using perspective of fibrin-collagen substance “ТахоКомб” to intestinal suture. *Khirurgiia* [Surgery], 2004, no. 2, pp. 53–55 (in Russian).
16. Wang P., Wang J., Zhang W., Li Y., Li J. Effect of the combination of fibrin glue and growth hormone on intestinal anastomoses in a pig model of traumatic shock associated with peritonitis. *World Journal of Surgery*, 2009, vol. 33, no. 3, pp. 567–576. doi: 10.1007/s00268-008-9889-x.

17. Jablin M. S., Dubey M., Zhernenkov M., Toomey R., Majewski J. Influence of lipid membrane rigidity on properties of supporting polymer. *Biophysical Journal*, 2011, vol. 101, no. 1, pp. 128–133. doi: 10.1016/j.bpj.2011.05.054.
18. Mamede A. Amniotic membrane: from structure and functions to clinical applications. *Cell Tissue Research*, 2012, vol. 349, no. 2, pp. 447–458. doi: 10.1007/s00441-012-1424-6.
19. Fairbairn N., Randolph M., Redmond R. The clinical applications of human amnion in plastic surgery. *Journal of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery*, 2014, vol. 67, pp. 662–675. doi: 10.1016/j.bjps.2014.01.031.
20. Manuelpillai U. Amniotic membrane and amniotic cells: Potential therapeutic tools to combat tissue inflammation and fibrosis? *Placenta*, 2011, vol. 32, no. 4, pp. S320–S325. doi: 10.1016/j.placenta.2011.04.010.
21. Rennie K., Gruslin A., Hengstschräger M., Pei D., Cai J., Nikaido T., Bani-Yaghoub M. Applications of amniotic membrane and fluid in stem cell biology and regenerative medicine. *Stem Cells International*, 2012, vol. 2012. doi: 10.1155/2012/721538.
22. Uludag M., Ozdilli K., Citgez B., Yetkin G., Ipcioglu O., Ozcan O., Polat N., Kartal A., Torun P., Isgor A. Covering the colon anastomoses with amniotic membrane prevents the negative effects of early intraperitoneal 5-FU administration on anastomotic healing. *International Journal of Colorectal Disease*, 2010, vol. 25, no. 2, pp. 223–232.

### Информация об авторах

*Завада Николай Васильевич* – д-р мед. наук, профессор. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nvzavada@tut.by.

*Волков Олег Евгеньевич* – аспирант. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: helgivvv@gmail.com.

*Рябцева Светлана Николаевна* – канд. мед. наук, науч. сотрудник. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь).

*Швед Иван Адамович* – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь).

### Для цитирования

Морфологическая оценка эффективности эвертированного механического шва, закрытого амниотической мембраной, при разрыве тонкой кишки в условиях экспериментального перитонита / Н. В. Завада [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 2. – С. 50–60.

### Information about the authors

*Zavada Nikolay Vasilievich* – D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nvzavada@tut.by.

*Volkov Oleg Evgenyavich* – Postgraduate student. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: helgivvv@gmail.com.

*Rjabceva Svetlana Nikolaevna* – Ph. D. (Med.), Researcher. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus).

*Shved Ivan Adamovich* – D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus).

### For citation

Zavada N. V., Volkov O. E., Ryabtseva S. N., Shved I. A. Morphological evaluation of the efficiency of abdominal adhesions prevention with new intestinal rupture suture in peritonitis (experimental study). *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2017, no. 2, pp. 50–60.

ISSN 1814-6023 (print)

УДК 612.017.1+575.117.2:[616.98:578.828.6HIV]:578.242

Поступила в редакцию 15.02.2017

Received 15.02.2017

**Н. В. Матиевская<sup>1</sup>, А. Е. Гончаров<sup>2</sup>, И. О. Токунова<sup>1</sup>, Д. Е. Киреев<sup>3</sup>**<sup>1</sup>*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь*<sup>2</sup>*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь*<sup>3</sup>*Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии, Москва, Российская Федерация***ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА И ЭКСПРЕССИИ CCR5, CXCR4 У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ СПИДА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТРОПИЗМА ВИРУСА**

Изучены особенности клеточного иммунитета, экспрессии CCR5 и CXCR4 на Т-лимфоцитах крови при формировании СПИДа у ВИЧ-инфицированных пациентов в зависимости от тропизма вируса.

Обследуемые были разделены на две группы: 1-я группа – 34 пациента с R5-тропным (R5тр) ВИЧ; 2-я группа – 19 пациентов с не R5-тропным (не R5тр) ВИЧ. Группу контроля составили 16 здоровых лиц (3 мужчины и 13 женщин, средний возраст  $32,5 \pm 15,1$  года). СПИД устанавливали при наличии у пациента 4-й клинической стадии ВИЧ (ВОЗ, 2012) и/или уровня CD4+ Т-лимфоцитов менее 200 кл/мкл. Иммунофенотип клеток определяли методом проточной цитофлуориметрии, используя моноклональные антитела производства Becton Dickenson (США). Тропизм ВИЧ определяли с помощью набора реагентов «АмплиСенс HIV-Resist-Seq» производства ФБУН ЦНИИ эпидемиологии (Россия), FPR = 20 %.

Установлено, что переключение тропизма ВИЧ ассоциируется с усилением иммуносупрессии в связи со значительным снижением содержания В-лимфоцитов у пациентов без СПИДа и Т-хелперов у пациентов со СПИДом.

У пациентов, инфицированных R5тр ВИЧ, не получающих антиретровирусной терапии, имела место более выраженная экспрессия HLA-DR на Т-лимфоцитах, Т-хелперах и цитотоксических Т-лимфоцитах, чем у инфицированных не R5тр ВИЧ.

Развитие СПИДа при инфекции R5тр ВИЧ ассоциировалось со снижением содержания Т-лимфоцитов, Т-хелперов, активированных Т-хелперов и повышением интенсивности экспрессии HLA-DR на Т-хелперах, а развитие СПИДа при инфекции не R5тр ВИЧ – со снижением экспрессии CXCR4+ на лимфоцитах, CCR5 на Т-хелперах, усилением процессов активации Т-клеточного иммунитета за счет повышения экспрессии HLA-DR на лимфоцитах, Т-лимфоцитах, усиления интенсивности экспрессии HLA-DR на Т-хелперах, увеличения экспрессии HLA-DR CD8+ Т-лимфоцитами, снижения содержания CD4+CD25+ клеток.

*Ключевые слова:* ВИЧ-инфекция, тропизм, CCR5, CXCR4, Т-лимфоциты, иммуносупрессия, СПИД, активация иммунитета.

**N. V. Matsiyuskaya<sup>1</sup>, A. Y. Hancharow<sup>2</sup>, I. O. Tokunova<sup>1</sup>, D. E. Kireev<sup>3</sup>**<sup>1</sup>*Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus*<sup>2</sup>*Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus*<sup>3</sup>*Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russian Federation***CHANGES IN THE CELLULAR IMMUNITY AND THE EXPRESSION OF CCR5, CXCR4 IN HIV-INFECTED PATIENTS IN THE FORMATION OF IMMUNOSUPPRESSION DEPENDING ON THE VIRAL TROPISM**

The aim of the study was to establish the features of the cellular immunity and the expression of CCR5 and CXCR4 by T-lymphocytes of blood during the AIDS development in HIV-infected patients depending on the viral tropism.

The examined patients were divided in two groups: the 1<sup>st</sup> group – 34 patients infected by R5 tropic HIV; the 2<sup>nd</sup> group – 19 patients infected by non R5 tropic HIV. The control group consisted of 16 health persons (3 men, 13 females, the average was  $32.5 \pm 15.1$  years). AIDS was established in patients with the 4<sup>th</sup> stage of HIV infection (WHO, 2012) and/or at the level of CD4+ T-lymphocytes less than 200 cells/mkl. The immunophenotype of cells was detected by the flow cytometry. Monoclonal antibodies “Becton Dickenson” (USA) were used. HIV tropism was detected by “Amplisens HIV-Resist-Seq” reagents (Russia), FPR = 20 %.

The obtained results show that the switching of HIV tropism was associated with immunosuppression enhancement due to a significant decrease of B-lymphocytes in patients without AIDS and T-lymphocytes in patients with AIDS.

Patients infected by R5 HIV without antiretroviral therapy had a significantly higher level of cytotoxic T-lymphocytes in comparison with those infected by non R5 HIV.

The development of AIDS in patients with R5 HIV infection was associated with a significant decrease in T-lymphocytes, T-helpers, activated T-helpers and with an increase in the expression of HLA-DR by T-helpers.

The development of AIDS in patients with non R5 HIV infection was associated with a decrease in the CXCR4 expression by blood lymphocytes, CCR5 expression by T-helpers, enhanced T-cell immunity activation due to a higher expression of HLA-DR by blood lymphocytes and T-lymphocytes, a higher intensity of HLA-DR expression by T-helpers, an increase in the HLA-DR expression by CD8+ lymphocytes, a decrease in the CD4+CD25+ content.

*Keywords:* HIV infection, tropism, CCR5, CXCR4, T-lymphocytes, immunosuppression, AIDS, immunity activation.

**Введение.** Тропизм ВИЧ к Т-лимфоцитам (ТЛ) обеспечивается комплементарностью вариабельных фрагментов петли V3 поверхностного белка вируса к молекуле CD4 Т-клеток хелперов и связыванием с хемокиновыми ко-рецепторами – CCR5 и/или CXCR4. Вирус, использующий CCR5 ко-рецептор, называется R5 тропным (R5тр). Он определяется начиная с самых ранних этапов инфицирования человека ВИЧ. Слияние поверхностного рецептора вируса gp120 с CD4 и одновременно с CCR5 инициирует начальные этапы жизненного цикла вируса в клетках пациента. Отсутствие экспрессии данного ко-рецептора на поверхности клеток, связанное с генетической мутацией CCR5 delta 32, обеспечивает невосприимчивость человека к ВИЧ-инфекции [1]. В связи с этим блокировка данного ко-рецептора легла в основу разработки принципиально новой группы антиретровирусных препаратов – антагонистов CCR5. У некоторых пациентов происходит переключение тропизма ВИЧ в динамике развития ВИЧ-инфекции, что позволяет вирусу использовать для проникновения в клетки ко-рецептор CXCR4. В связи с этим переключение тропизма ВИЧ является одним из наиболее ярких проявлений генетической изменчивости вируса в организме инфицированного пациента [2–4]. Различия в патогенезе ВИЧ-инфекции при разном тропизме вируса связывают с экспрессией хемокиновых рецепторов (ХР) на разных клетках человека, что вовлекает в инфекционный процесс различные пулы иммунокомпетентных клеток [4, 5].

Цель исследования – установить особенности клеточного иммунитета, экспрессии CCR5 и CXCR4 на Т-лимфоцитах крови при формировании СПИДа у ВИЧ-инфицированных пациентов в зависимости от тропизма вируса.

**Материалы и методы исследования.** Изучены показатели клеточного иммунитета в двух группах пациентов: у 34 инфицированных R5тр ВИЧ (1-я группа) и у 19 инфицированных не R5-тропным (не R5тр) ВИЧ (2-я группа). Группу контроля составили 16 здоровых лиц (3 мужчины и 13 женщин, без маркеров парентеральных гепатитов и ВИЧ-инфекции, средний возраст  $32,5 \pm 15,1$  года). СПИД устанавливался при наличии у пациента 4-й клинической стадии ВИЧ (ВОЗ, 2012) и/или уровня CD4+ Т-лимфоцитов менее 200 кл/мкл.

Иммунофенотип клеток крови определяли методом проточной цитометрии. Исследуемый образец крови в количестве 100 мкл инкубировали с соответствующими моноклональными антителами на протяжении 15 мин при температуре 4 °С. Использовали следующие панели антител: 1) CD4 FITC, клон MEM-241; CD8 PE, клон MEM-31; CD3 PerCP, клон UCST1; HLA-DR APC, клон MEM-12 (ExBio, Чехия); 2) CD3 FITC, клон UCST1; CD16 PE, клон 3G8; CD56 PE, клон LT56; CD45 PerCP, клон MEM-28; CD19 APC, клон LT19 (ExBio, Чехия); 3) CD195 (CCR5) FITC, клон 2D7/CCR5 (BD, США); CD184 (CXCR4) PE, клон 12G5 (BD, США); CD4 PerCP-Cy5.5, клон MEM-241 (ExBio, Чехия); CD25 APC, клон MEM-181 (ExBio, Чехия). Для корректной настройки параметров компенсации готовили single-stained контроли. Лизировали эритроциты раствором хлорида аммония на протяжении 15 мин при температуре 18–25 °С. Затем клетки осаждали путем центрифугирования в течение 5 мин, удаляли супернатант и суспендировали клетки в 300 мкл фосфатного буферного раствора. Учет проводили на проточном цитометре FACSCalibur. В каждом образце подсчитывали не менее  $5 \cdot 10^5$  клеток. Данные анализировали при помощи программы Weasel версии 3.2. Рассчитывали относительное (%) и абсолютное содержание (кл/мкл) субпопуляций клеток, а также относительную интенсивность экспрессии молекул клетками, которую выражали в условных единицах флуоресценции (усл. ед.). Тропизм ВИЧ оценивали с помощью набора реагентов «АмплиСенс HIV-Resist-Seq» производства ФБУН ЦНИИ эпидемиологии (Россия) согласно инструкции производителя, FPR = 20 % [6].

**Результаты и их обсуждение.** Характеристика пациентов в группах наблюдения представлена в табл. 1.

Таблица 1. Характеристика пациентов в группах наблюдения

Table 1. Characteristic of patients in the study groups of patients

Показатель	Пациенты с R5тр ВИЧ (1-я группа, $n = 34$ )	Пациенты с не R5тр ВИЧ (2-я группа, $n = 19$ )	$p$
Возраст, лет	34,1 ± 5,9	33,4 ± 6,3	>0,05*
Стаж ВИЧ-инфекции, лет	4,9	6,6	>0,05*
Мужчины	14 (41,2 %)	10 (52,6 %)	>0,05*
Женщины	20 (58,8 %)	9 (47,4 %)	>0,05*
ПИН	12 (35,2 %)	5 (26,3 %)	>0,05*
1-я клиническая стадия	18 (52,9 %)	8 (42,1 %)	>0,05*
2-я клиническая стадия	4 (11,8 %)	2 (10,6 %)	>0,05*
3-я клиническая стадия	10 (29,5 %)	6 (31,6 %)	>0,05*
4-я клиническая стадия	2 (5,8 %)	3 (15,7 %)	>0,05*
СПИД	10 (29,4 %)	7 (36,8 %)	>0,05*
АРТ	17 (50 %)	7 (36,8 %)	>0,05*

Примечание. \* – тест Манна–Уитни; \* – тест  $\chi^2$ ; ПИН – потребители инъекционных наркотических препаратов; АРТ – антиретровирусная терапия.

Как видно из табл. 1, пациенты в группах не различались по полу, возрасту, путям инфицирования ВИЧ, стадиям ВИЧ-инфекции.

Показатели содержания В-, Т-лимфоцитов и их субпопуляций (CD3+CD4+ и CD3+CD8+) в группах наблюдения и в контроле представлены в табл. 2.

Таблица 2. Показатели содержания В-, Т-лимфоцитов и их субпопуляций в группах наблюдения

Table 2. Indices of the level of В-, Т-lymphocytes and their subpopulations in the study groups

Показатель, медиана (ИКР)	Контроль ( $n = 16$ )	Пациенты с R5тр ВИЧ (1-я группа, $n = 34$ )	Пациенты с не R5тр ВИЧ (2-я группа, $n = 19$ )
CD19+ В-клетки, %	8,20 (5,9–11,6)	5,2 (3,7–6,7)*	4,3 (3,3–5,4)*
CD19+ В-клетки, кл/мкл	182,18 (109,4–314,7)	89 (48,6–124)*	73,8 (49,9–91,1)*
CD3+ Т-клетки, %	70,92 (65,6–75,8)	78,4 (68,3–82,3)	78,6 (66,8–89,2)
CD3+ Т-клетки, кл/мкл	1679,51 (1232,5–2197,1)	1261 (1021–1562)*	1187 (859–1954)
CD3+CD4+ Т-хелперы, %	41,54 (37,4–46,7)	22,5 (14,6–28,5)*	21,2 (15,9–29)*
CD3+CD4+ Т-хелперы, кл/мкл	934,38 (653,1–1366,7)	394 (248,7–533)*	335 (132–425)*
CD3+CD8+ Т-цитотоксические лимфоциты, %	24,12 (20,4–28,6)	50,2 (31,6–63)*	51,8 (40,3–63)*
CD3+CD8+ Т-цитотоксические лимфоциты, кл/мкл	551,01 (460,1–685,7)	728,5 (495,5–1007)*	815 (374–1253)
Соотношение CD4/CD8	1,69 (1,3–2,1)	0,45 (0,24–0,72)*	0,36 (0,25–0,51)*

Примечание. \* –  $p < 0,05$  ( $M-U$  test) при сравнении с контролем; ИКР – интерквартильный размах.

Как видно из табл. 2, в группе контроля и в группах пациентов имелись достоверные различия в содержании В-клеток, Т-лимфоцитов и их субпопуляций, а в группах пациентов различия между этими показателями отсутствовали ( $p > 0,05$ ).

Для оценки активации Т-клеточного иммунитета в зависимости от тропизма вируса изучена экспрессия молекул HLA-DR и CD25 на Т-лимфоцитах крови и их субпопуляциях (табл. 3).

Как видно из представленных в табл. 3 данных, в группах пациентов отсутствовали различия в экспрессии HLA-DR на ТЛ и их субпопуляциях (Т-хелперах и цитотоксических ТЛ). Обращает на себя внимание тот факт, что у пациентов 1-й группы имела место значительно более выраженная экспрессия HLA-DR на лимфоцитах крови по сравнению с контролем, в то время как во 2-й группе этот показатель был ниже и не отличался от такового в группе контроля. Снижение абсолютного содержания CD4+HLA-DR+ лимфоцитов связано в первую очередь со снижением Т-хелперов в обеих группах ВИЧ-инфицированных при сравнении с контролем. В то же время относительное содержание CD4+ ТЛ, экспрессирующих HLA-DR, от общего количества CD4+ ТЛ в обеих группах ВИЧ-инфицированных пациентов было достоверно выше, чем в контроле, что указывает на более выраженную активацию Т-хелперов при ВИЧ-инфекции по сравнению с контролем.

Таблица 3. Показатели экспрессии HLA-DR и CD25 в группах пациентов  
Table 3. Indices of the HLA-DR and CD25 expressions in the study groups of patients

Показатель, медиана (ИКР)	Контроль (n = 16)	Пациенты с R5тр ВИЧ (1-я группа, n = 34)	Пациенты с не R5тр ВИЧ (2-я группа, n = 19)
HLA-DR+ клетки, %	21,20 (18,2–27,5)	46,7 (40,3–56,8)*	37,9 (33,2–47,1)*
HLA-DR+ клетки, кл/мкл	574,96 (315,9–672,7)	849,3 (536,6–1165,5)*	541,1 (345,1–892,8)
CD3+HLA-DR+ активированные Т-клетки, %	8,60 (6,09–13,5)	37,2 (27,8–47,7)*	31,3 (27–36)*
CD3+HLA-DR+ активированные Т-клетки, кл/мкл	176,81 (126,5–267,7)	653,9 (427,2–905,4)*	427,6 (224,8–805,5)*
CD4+ HLA-DR+ активированные Т-хелперы, %	4,95 (3,9–6,05)	4,34 (3,4–5,6)	4,04 (3,2–4,9)
CD4+HLA-DR+ активированные Т-хелперы, кл/мкл	101,46 (81,6–145,6)	65,68 (50,7–115,6)*	54,44 (47,8–72,1)*
Экспрессия HLA-DR Т-хелперами, %	12,8 (8,2–15,7)	26,29 (17,1–30,08)*	18,47 (13,06–31,14)*
Интенсивность экспрессии HLA-DR Т-хелперами, усл. ед.	80,3 (66,6–95)	82,3 (59,8–95)	80,3 (70,8–98,1)
CD8+ HLA-DR+ активированные Т-цитотоксические лимфоциты, %	5,43 (4,4–11,4)	37,1 (25,7–45,9)*	30,2 (24,7–36,2)*
CD8+HLA-DR+ активированные Т-цитотоксические лимфоциты, кл/мкл	114,74 (94,5–225,1)	606,3 (385,2–926,7)*	417,3 (245,7–729,1)*
Экспрессия HLA-DR Т-цитотоксическими клетками, %	30,7 (17,0–38,3)	64,38 (43,5–71,9)*	54,3 (39,2–62,8)*
Интенсивность экспрессии HLA-DR цитотоксическими клетками, усл. ед.	58,2 (47,7–83,4)	65,3 (48,2–96,5)	52 (45,5–57,9)
Т-регуляторные клетки, %	3,5 (3,1–4,8)	1,5 (1,2–2,1)*	1,3 (1,0–1,9)*
Т-регуляторные клетки, кл/мкл	87,8 (58,7–114,7)	31,0 (16,5–44,0)*	22,1 (8,6–34,2)*
Интенсивность экспрессии CD25+ Т-регуляторными клетками, усл. ед.	8,9 (7,8–10,5)	9,2 (8,1–11)	8,5 (7,4–9,4)

Примечание. \* –  $p < 0,05$  (тест Манна–Уитни) при сравнении с контролем; ИКР – интерквартильный размах.

Учитывая, что антиретровирусная терапия (АРТ) приводит к снижению выраженности экспрессии маркеров активации [7], изучена экспрессия HLA-DR на ТЛ и их субпопуляциях у пациентов, не получающих АРТ. Среди таких пациентов 17, инфицированных R5тр вариантом ВИЧ, и 12, инфицированных не R5тр вариантом (табл. 4).

Как видно из представленных в табл. 4 данных, при сравнении иммунологических показателей пациентов установлены достоверные различия в абсолютном содержании активированных ТЛ в группах пациентов. При инфицировании R5тр вариантом ВИЧ имела место более выраженная экспрессия маркера активации HLA-DR на лимфоцитах крови, а также большее содержание акти-

Таблица 4. Показатели экспрессии HLA-DR у пациентов, не получающих АРТ, в зависимости от тропизма ВИЧ

Table 4. Indices of the HLA-DR expression in the patients with non R5 HIV depending on the HIV tropism

Показатель, медиана (min–max)	Пациенты с R5тр ВИЧ (1-я группа, n = 17)	Пациенты с не R5тр ВИЧ (2-я группа, n = 12)	$p^*$
HLA-DR+ клетки, %	53,29 (18,5–70,6)	37,90 (16,9–68,4)	0,03
HLA-DR+ клетки, кл/мкл	1038,14 (324,7–1669,7)	541,18 (215,3–1470,1)	0,02
CD3+HLA-DR+ активированные Т-клетки, %	45,23 (11,7–60,5)	31,31 (7,9–63,8)	0,2
CD3+HLA-DR+ Т-клетки, кл/мкл	713,49 (206,1–1626,5)	427,67 (143,0–1023,8)	0,05
CD4+HLA-DR+ активированные Т-хелперы, %	4,36 (1,2–6,7)	4,04 (1,6–8,5)	0,5
CD4+HLA-DR+ активированные Т-хелперы, кл/мкл	70,03 (18,4–163,6)	54,44 (24,1–153,5)	0,06
Экспрессия HLA-DR Т-хелперами, %	26,3 (8,0–133,7)	18,5 (13,1–31,1)	0,03
Интенсивность экспрессии HLA-DR Т-хелперами, усл. ед.	87,3 (69,8–95,0)	80,3 (70,8–98,1)	0,6
CD8+HLA-DR+ активированные Т-цитотоксические лимфоциты, %	40,79 (11,0–193,8)	30,25 (8,5–60,3)	0,1
CD8+HLA-DR+ активированные Т-цитотоксические лимфоциты, кл/мкл	764,52 (61,6–1655,3)	417,30 (152,3–952,4)	0,03
Интенсивность экспрессии HLA-DR цитотоксическими клетками, усл. ед.	73,6 (48,9–96,5)	52,0 (45,5–78,6)	0,2

Примечание. \* – тест Манна–Уитни.

вированных ТЛ (CD3+HLA-DR) и активированных цитотоксических лимфоцитов (CD8+HLA-DR) – эффекторных клеток иммунной системы. Установлен ряд прямых коррелятивных связей (Spearman) показателя FRP с абсолютным содержанием (кл/мкл) следующих показателей: HLA-DRA ( $R = 0,5$ ,  $p < 0,006$ ), CD3+HLA-DRA+ ТЛ ( $R = 0,45$ ,  $p < 0,01$ ), CD4+HLA-DRA+ ТЛ ( $R = 0,52$ ,  $p < 0,004$ ), CD8+HLA-DRA+ ТЛ ( $R = 0,51$ ,  $p = 0,005$ ).

Экспрессия ХР на ТЛ пациентов представлена в табл. 5.

Т а б л и ц а 5. Показатели экспрессии CXCR4 и CCR5 лимфоцитами периферической крови в группах пациентов

Table 5. Indices of the CXCR4 and CCR5 expressions by peripheral blood lymphocytes in the study groups of patients

Показатель, медиана (ИКР)	Контроль ( $n = 16$ )	Пациенты с R5тр ВИЧ (1-я группа, $n = 34$ )	Пациенты с не R5тр ВИЧ (2-я группа, $n = 19$ )
CXCR4+ клетки, %	15,51 (11,9–18,6)	17,7 (11,1–25,9)	14,5 (7,8–25)
CXCR4+ клетки, кл/мкл	345,6(233,9–478,7)	318,1(224,8–449,0)	232(85,9–338,4)
CD4+CXCR4+ Т-хелперы, %	4,15 (3,07–6,07)	7,4 (3,7–12,3)*	4,28 (1,8–14,05)
CD4+CXCR4+ Т-хелперы, кл/мкл	82,42 (58,1–187,5)	127,6 (54,9–191,7)	63,9 (19,3–193,4)
Экспрессия CXCR4 Т-хелперами, %	11,2 (7,7–14,1)	26,5 (14,2–46,6)*	17,1 (1–41,5)
Интенсивность экспрессии CXCR4 Т-хелперами, усл. ед.	12,2 (9,8–14,4)	12,3 (10,3–14,2)	11,0 (8,2–15)
CCR5+ клетки, %	20,67 (17,7–25,6)	28,6 (16,9–36,01)	31,9 (20,9–40,5)*
CCR5+ клетки, кл/мкл	434,47 (376,5–604,8)	469,5 (312–663,9)	490 (317–584)
CD4+CCR5+ Т-хелперы, %	6,11 (5,08–8,1)	3,06 (1,8–3,5)*	2,7 (1,6–4,1)*
CD4+CCR5+ Т-хелперы, кл/мкл	119,25 (98,6–184,4)	53,8 (31,5–71,1)*	44,4 (41,6–97)*
Экспрессия CCR5 Т-хелперами, %	16,6 (10,5–20,2)	13,8 (10,1–20,9)	16,2 (18,6–67,4)
Интенсивность экспрессии CCR5 Т-хелперами, усл. ед.	10,2 (8,8–12,2)	10,5 (8,3–12,2)	9,0 (6,8–12,9)
CD4+CXCR4+CCR5+ Т-хелперы, %	0,24 (0,15–0,45)	0,17 (0,07–0,33)	0,16 (0,01–0,3)
CD4+CXCR4+CCR5+ Т-хелперы, кл/мкл	6,66 (2,3–8,2)	2,9 (1,15–6,04)*	1,59 (0,1–4,6)*

П р и м е ч а н и е. \* –  $p < 0,05$  (тест Манна–Уитни) при сравнении с контролем; ИКР – интерквартильный размах.

Как видно из табл. 5, не установлено достоверных различий в экспрессии ХР на иммунокомпетентных клетках крови у пациентов двух групп.

У пациентов 1-й группы имела место более выраженная экспрессия CXCR4+ на Т-хелперах (%), а доля CD4+ ТЛ, экспрессирующих CXCR4+, была больше по сравнению с контролем. Содержание Т-хелперов, экспрессирующих CCR5, а также ко-рецепторов CXCR4 и CCR5 в обеих группах было снижено по сравнению с контролем (табл. 5).

Установлено также, что у не получающих АРТ пациентов интенсивность экспрессии CCR5 на Т-хелперах в 1-й группе была достоверно выше, чем во 2-й: 10,5 (7,7–12,2) и 8,2 (4,7–13,4) соответственно ( $p < 0,0001$ ).

У пациентов 1-й группы экспрессия CXCR4 имела прямую коррелятивную связь с CD19+ лимфоцитами крови (ЛК) ( $R = 0,42$ ,  $p < 0,02$ ), CD4+ ТЛ ( $R = 0,63$ ,  $p < 0,0001$ ), CD4+CD25+ ТЛ ( $R = 0,62$ ,  $p < 0,0001$ ), обратная корреляция CXCR4 установлена с вирусной нагрузкой ВИЧ ( $R = -0,51$ ,  $p < 0,003$ ), с активированными CD3+HLA-DR+ ТЛ ( $R = -0,61$ ,  $p < 0,003$ ) и с активированными CD8+HLA-DR+ ТЛ ( $R = -0,62$ ,  $p < 0,002$ ).

Экспрессия CCR5 имела прямую связь с содержанием CD8+ ТЛ ( $R = 0,78$ ,  $p < 0,0001$ ), с активированными CD3+HLA-DR+ ТЛ ( $R = 0,81$ ,  $p < 0,0001$ ), с активированными CD8+HLA-DR+ ТЛ ( $R = 0,79$ ,  $p < 0,0001$ ).

У пациентов 2-й группы экспрессия CXCR4 имела прямую коррелятивную связь с активированными CD3+HLA-DR+ ТЛ ( $R = 0,64$ ,  $p < 0,03$ ), CD4+ ТЛ ( $R = 0,46$ ,  $p < 0,05$ ), CD3+ ТЛ ( $R = 0,50$ ,  $p < 0,03$ ), обратная корреляция CXCR4 установлена с интенсивностью экспрессии HLA-DR+ цитотоксическими CD8+ ТЛ ( $R = 0,74$ ,  $p < 0,01$ ), с интенсивностью экспрессии HLA-DR+ CD4+ ТЛ ( $R = 0,71$ ,  $p < 0,01$ ).

Во 2-й группе экспрессия CCR5 имела прямую связь с содержанием CD8+ ТЛ ( $R = 0,89$ ,  $p < 0,001$ ), с активированными CD3+HLA-DR+ ТЛ ( $R = 0,93$ ,  $p < 0,0001$ ), с активированными

CD8+ HLA-DR+ ТЛ ( $R = 0,88$ ,  $p < 0,001$ ), с экспрессией HLA-DR на ЛК ( $R = 0,88$ ,  $p < 0,0001$ ), обратная корреляция CCR5 установлена с CD4+CD25+ ТЛ ( $R = -0,57$ ,  $p < 0,01$ ).

С целью выявления особенностей формирования иммуносупрессии при разном тропизме ВИЧ оценены иммунологические показатели у пациентов в зависимости от наличия или отсутствия СПИДа.

Установлено, что у пациентов, инфицированных R5-тропным ВИЧ, при СПИДе абсолютное содержание ТЛ (кл/мкл) снижено ( $p = 0,02$ ) по сравнению с таковым у пациентов без СПИДа: 982 (935–1231) и 1352 (1109–1646), а уровень CD4+ ТМ (кл/мкл) составил 333,1 (126,4–381) и 478 (267–608,3) соответственно ( $p = 0,004$ ), что является закономерным в динамике прогрессирования ВИЧ-инфекции.

Сравнение показателей экспрессии HLA-DR и CD25 у пациентов с R5тр ВИЧ выявило достоверное снижение при наличии СПИДа Т-хелперов, экспрессирующих HLA-DR (кл/мкл): 40,14 (34,9–50,7) и 87,15 (63,09–119,7) соответственно ( $p < 0,05$ ).

Сравнение показателей экспрессии ХР (CCR5 и CXCR4) на ТЛ и их субпопуляциях у пациентов с R5тр ВИЧ не выявило достоверных различий в зависимости от наличия или отсутствия СПИДа: содержание CCR5+ Т-хелперов (кл/мкл) составило 38,7 (31,3–59,3) и 61 (34,2–72,3) соответственно ( $p > 0,05$ ). Не установлено достоверных различий и в интенсивности экспрессии CCR5 Т-хелперами (СПИД/отсутствие СПИДа): 10,4 (8,8–11,8) и 10,6 (7,4–12,3) соответственно ( $p > 0,05$ ), а также в интенсивности экспрессии CXCR4 Т-хелперами: 12,5 (11,8–14,4) и 12,2 (9,9–14,0) соответственно ( $p > 0,05$ ).

Показатели клеточного иммунитета у пациентов, инфицированных не R5тр вирусом, в зависимости от наличия СПИДа различались как по относительному содержанию Т-хелперов (%): 9 (5,0–20,9) и 26,57 (20,66–31,92) соответственно ( $p < 0,05$ ), так и по абсолютному (кл/мкл): 128 (79–271) и 388 (328,9–560,9) ( $p < 0,05$ ). Иммунорегуляторный индекс (ИСИ) у пациентов со СПИДом был достоверно ниже: 0,3 (0,08–0,4) и 0,44 (0,36–1,01) соответственно,  $p < 0,05$ .

Установлено, что у пациентов без СПИДа, инфицированных не R5тр ВИЧ, содержание CD19+ ЛК и CD4+ ТЛ было значительно снижено по сравнению с таковым у пациентов без СПИДа, инфицированных R5тр ВИЧ ( $p < 0,05$ ). У пациентов с не R5тр ВИЧ со СПИДом также отмечено более низкое содержание CD4+ ТЛ ( $p = 0,05$ ), чем у инфицированных R5тр ВИЧ. Это указывает на значительно более выраженную иммуносупрессию у пациентов с переключением тропизма вируса как до развития СПИДа, так и на фоне СПИДа.

Показатели экспрессии HLA-DR и CD25 у пациентов с не R5тр ВИЧ в зависимости от наличия СПИДа представлены в табл. 6.

Как видно из табл. 6, у пациентов 2-й группы со СПИДом отмечалось значительное усиление интенсивности экспрессии HLA-DR+ на CD4+ ТЛ на фоне существенного снижения абсолютного содержания активированных ТЛ и Т-хелперов. Относительное содержание активированных CD8+ ТЛ в структуре CD8+ ТЛ также значительно превышает таковое у пациентов без СПИДа.

Относительное и абсолютное содержание CD4+CD25+ ТЛ, включая популяцию Т-регуляторных клеток, у пациентов со СПИДом намного ниже, чем у пациентов без СПИДа, несмотря на отсутствие различий в интенсивности экспрессии CD25 на Т-хелперах в группах пациентов.

Показатели экспрессии ХР (CCR5 и CXCR4) у пациентов с не R5тр ВИЧ в зависимости от наличия СПИДа представлены в табл. 7.

Как видно из табл. 7, у пациентов 2-й группы при наличии СПИДа установлено значительное снижение экспрессии CXCR4 на ЛК, а также, как и в 1-й группе, снижение содержания CD4+ CCR5+ ТЛ ( $p < 0,05$ ).

Переключение тропизма ВИЧ является одной из важнейших особенностей патогенеза ВИЧ-инфекции. В зависимости от используемого ко-рецептора выделяют три варианта ВИЧ: CCR5(R5)-тропный вирус, использующий ко-рецептор CCR5 во время присоединения к клетке, CCR5 и CXCR4 (R5X4) вирусы с двойным тропизмом, CXCR4(X4)-тропный вирус, который является наиболее редким вариантом [2, 3].

Известно, что R5-тропные вирусы доминируют на стадии первичной инфекции, однако у 50 % пациентов в динамике развития ВИЧ-инфекции происходит смена тропизма ВИЧ с R5 на R5/X4, а затем на X4. У 50 % ВИЧ-инфицированных переключения тропизма вируса не проис-

Таблица 6. Показатели экспрессии HLA-DR и CD25 у пациентов с не R5-тропным ВИЧ в зависимости от наличия СПИДа

Table 6. Indices of the HLA-DR and CD25 expressions in patients with non R5 tropic HIV depending on the AIDS presence

Показатель, медиана (ИКР)	СПИД + не R5тр ВИЧ (2-я группа, n = 7)	Отсутствие СПИДа + не R5тр ВИЧ (2-я группа, n = 12)
HLA-DR+ клетки, %	47,19 (41,84–59,1)*	34,18 (25,02–39,36)
HLA-DR+ клетки, кл/мкл	595,8 (224,7–1213,7)	541,1 (388,87–717,35)
CD3+HLA-DR+ активированные Т-клетки, %	36,08 (33,9–50,6)*	29,9 (17,5–31,3)
CD3+HLA-DR+ активированные Т-клетки, кл/мкл	549,4 (190,1–958,3)	427,67 (297,9–580,2)
CD4+ HLA-DR+ активированные Т-хелперы, %	4,18 (2,79–4,9)	3,83 (3,22–5,34)
CD4+HLA-DR+ активированные Т-хелперы, кл/мкл	37,8 (26,2–51,5)*	62,81 (51,9–84,6)
Экспрессия HLA-DR Т-хелперами, %	25,3 (12,9–47,1)	17,03 (13,06–25,5)
Интенсивность экспрессии HLA-DR Т-хелперами, усл. ед.	116,2 (108,4–132,6)*	76,7 (57,2–83,2)
CD8+ HLA-DR+ активированные Т-цитотоксические лимфоциты, %	35,07 (32,3–49,02)	25,74 (18,4–31,4)
CD8+HLA-DR+ активированные Т-цитотоксические лимфоциты, кл/мкл	525,4 (189,01–897,6)	417,3 (287,38–560,1)
Экспрессия HLA-DR Т-цитотоксическими лимфоцитами, %	62,8 (57,0–70,3)*	46,5 (36,7–56,6)
Интенсивность экспрессии HLA-DR Т-цитотоксическими лимфоцитами, усл. ед.	82,4 (60,5–99,8)	49,3 (45,5–58,7)
Т-регуляторные клетки, %	1,2 (0,34–1,3)*	1,6 (1,1–2,15)
Т-регуляторные клетки, кл/мкл	8,6 (4,76–22,1)*	23,8 (13,9–41,7)
Интенсивность экспрессии CD25+ Т-регуляторными клетками, усл. ед.	8,4 (7,3–9,4)	8,5 (7,6–9,3)

Примечание. \* –  $p < 0,05$  при сравнении показателей в группах, тест Манна–Уитни; ИКР – интерквартильный размах.

Таблица 7. Показатели экспрессии CCR5 и CXCR4 на лимфоцитах крови у пациентов с не R5-тропным ВИЧ в зависимости от наличия СПИДа

Table 7. Indices of the CCR5 and CXCR4 expressions by blood lymphocytes of patients with non R5 tropic HIV depending on the AIDS presence

Показатель, медиана (ИКР)	СПИД + не R5тр ВИЧ (2-я группа, n = 7)	Отсутствие СПИДа + не R5тр ВИЧ (2-я группа, n = 12)
CXCR4+ клетки, %	8,57 (4,7–22,1)*	26,54 (15,7–48,28)
CXCR4+ клетки, кл/мкл	153 (52,74–280)	276,8 (152,63–391,74)
CD4+CXCR4+ Т-хелперы, %	3,51 (0,76–8,8)	6,53 (2,67–14,65)
CD4+CXCR4+ Т-хелперы, кл/мкл	19,30 (10,63–157)	121,44 (44,2–199,75)
CCR5+ клетки, %	35,91 (28,43–46,7)	26,73 (13,5–37,83)
CCR5+ клетки, кл/мкл	490 (197,5–727,7)	437,9 (326–583,34)
CD4+CCR5+ Т-хелперы, %	1,62 (0,63–3,8)	3,18 (2,26–5,83)
CD4+CCR5+ Т-хелперы, кл/мкл	18,58 (8,52–32,6)*	55,67 (43,65–85,43)
Экспрессия CCR5 Т-хелперами, %	17,72 (9,68–28,6)	14,65 (9,13–21,7)
CD4+CXCR4+CCR5+ Т-хелперы, %	0,12 (0–0,4)	0,21 (0–0,44)
CD4+CXCR4+CCR5+ Т-хелперы, кл/мкл	1,05 (0–3,2)	2,51 (0–6,98)
Экспрессия CXCR4 Т-хелперами, %	23,18 (13,18–49,2)	23,1 (4,7–46,79)
Интенсивность экспрессии CCR5 Т-хелперами, усл. ед.	9,80 (8,2–16,8)	8,3 (6,8–11,3)
Интенсивность экспрессии CXCR4 Т-хелперами, усл. ед.	11,90 (8–20)	10,35 ((8,2–13,2)

Примечание. \* –  $p < 0,05$  при сравнении показателей в группах, тест Манна–Уитни; ИКР – интерквартильный размах.

ходит и вплоть до развития терминальной стадии заболевания доминирующим является CCR5-тропный вариант [2, 3, 8].

Тропизм ВИЧ-1 к хемокиновым рецепторам связывают со структурой вариационного участка белка оболочки – V1–V3. Также известно, что петля V3, гипервариационный участок гена *gpl20*, имеет важное значение в характере иммунного ответа организма и возможности вируса «ускользнуть» от прессинга иммунной системы [4, 5, 8].

Частота и причины переключения тропизма вируса в динамике существования ВИЧ-инфекции окончательно не определены. В то же время установлено, что переключение тропизма позволяет вирусу вовлекать в патологический процесс огромный пул так называемых naïve ТЛ, так как CXCR4 хемокиновые рецепторы экспрессированы практически на всех пулах CD4+ ТЛ. В то же время R5тр ВИЧ инфицирует преимущественно ТЛ памяти и макрофаги – клетки, активно участвующие в иммунных реакциях организма, на поверхности которых представлен CCR5 ко-рецептор [2, 5, 7].

Сравнение показателей клеточного иммунитета у пациентов, инфицированных вирусами разного тропизма без учета наличия СПИДа, не выявило различий в уровне В- и Т-лимфоцитов, Т-хелперов и цитотоксических ТЛ. Сравнение этих же показателей у пациентов в зависимости от наличия СПИДа позволило установить более выраженную иммуносупрессию у пациентов с не R5тр ВИЧ как при отсутствии, так и при наличии СПИДа. Таким образом, переключение тропизма вируса происходит на фоне имеющей место иммуносупрессии.

Установлено, что при естественном течении ВИЧ-инфекции, т. е. без получения АРТ, у пациентов с R5тр ВИЧ имела место более активация Т-клеточного иммунитета, что проявилось более интенсивной экспрессией HLA-DR на ТЛ и их субпопуляциях [7].

Данный факт подтверждается наличием прямых коррелятивных связей экспрессии CCR5 на ЛК с содержанием CD8+ ТЛ, активированных CD3+HLA-DR+ ТЛ, активированных CD8+HLA-DR+ ТЛ в обеих группах пациентов.

Прогрессирование ВИЧ-инфекции и формирование СПИДа при инфекции R5тр ВИЧ ассоциировалось со снижением Т-хелперов, экспрессирующих HLA-DR (кл/мкл), что, вероятнее всего, связано с общим снижением Т-хелперов при СПИДе. В то же время установлена значительно более высокая интенсивность экспрессии HLA-DR на Т-хелперах при СПИДе по сравнению с таковой у пациентов без СПИДа, что, вероятно, позволяет нивелировать количественный недостаток активированных Т-хелперов в условиях иммуносупрессии у пациентов, инфицированных R5тр ВИЧ.

При не R5тр ВИЧ-инфекции СПИД ассоциировался со значимо более выраженными изменениями в популяционном составе иммунокомпетентных клеток. Так, при наличии СПИДа установлено усиление процессов активации Т-клеточного иммунитета, что проявилось повышением относительной экспрессии HLA-DR на ЛК, ТЛ и интенсивности экспрессии HLA-DR на Т-хелперах, а также увеличением относительного содержания CD8+ HLA-DR+ ТЛ. Кроме того, в отличие от 1-й группы пациентов, установлено значимое снижение как относительного, так и абсолютного содержания CD4+CD25+ ТЛ – регуляторных Т-хелперов.

Роль регуляторных Т-клеток в патогенезе ВИЧ-инфекции неоднозначна. Позитивная роль данных клеток связана с торможением процессов активации иммунитета, со снижением риска развития синдрома реконструкции иммунной системы на фоне восстановления иммунитета, сдерживанием иммунопролиферативных оппортунистических инфекций. В связи с этим снижение данной популяции иммунных клеток в случае возрастания активации иммунной системы при формировании СПИДа может рассматриваться как неблагоприятный фактор в патогенезе ВИЧ-инфекции у пациентов с не R5тр ВИЧ [9, 10].

В целом уровни экспрессии CXCR4 на ЛК в группах пациентов и в контроле не имели различий. Однако установлено существенное повышение экспрессии CXCR4 на CD4+ ТЛ, а также увеличение относительного содержания CXCR4+CD4+ в структуре CD4+ ТЛ у пациентов 1-й группы по сравнению с контролем, в то время как во 2-й группе данные закономерности не выявлены (см. табл. 5). Показано, что усиление экспрессии CXCR4 на CD4+ ТЛ является предиктором переключения тропизма вируса с R5 на X4-тропный ВИЧ в динамике развития заболевания, что позволяет объяснить данные факты [11, 12]. В обеих группах пациентов установлено снижение содержания CD4+ ТЛ, экспрессирующих CCR5, и CD4+ ТЛ, экспрессирующих оба ко-рецептора (CCR5 и CXCR4), по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). В то же время в обеих группах пациентов экспрессия CCR5 имела тенденцию к усилению при прогрессировании ВИЧ-инфекции и формировании СПИДа. Данная особенность может быть связана с усилением процессов активации иммунитета при СПИДе, что подтверждается наличием прямых коррелятивных связей между экспрессией CCR5 на ЛК и содержанием активированных ТЛ и активированных цитотоксических лимфоцитов в обеих группах пациентов.

Во 2-й группе пациентов имело место выраженное снижение экспрессии CXCR4 на ЛК при наличии СПИДа, что, возможно, связано с гибелью иммунокомпетентных клеток, экспрессирующих данный ХР в результате инфицирования их не R5тр ВИЧ.

Экспрессия CXCR4 имела прямую коррелятивную связь с маркерами иммуносупрессии в обеих группах пациентов – содержанием CD4+ и CD4CD25+ ТЛ. В обеих группах пациентов установлена обратная корреляция CXCR4 с активированными CD3+HLA-DR+ и CD8+HLA-DR+ ТЛ.

**Заключение.** Переключение тропизма ВИЧ ассоциировалось с усилением иммуносупрессии в связи со значительным снижением содержания В-лимфоцитов у пациентов без СПИДа и Т-хелперов у пациентов со СПИДом, а также у пациентов с не R5тр ВИЧ-инфекцией при сравнении с пациентами, инфицированными R5тр ВИЧ.

У инфицированных R5тр ВИЧ пациентов, не получавших АРТ, имела место более выраженная экспрессия HLA-DR на ТЛ, Т-хелперах и цитотоксических ТЛ, чем у инфицированных не R5тр ВИЧ.

Развитие СПИДа при инфекции R5тр ВИЧ ассоциировалось со значительным снижением содержания ТЛ, Т-хелперов, активированных Т-хелперов и повышением интенсивности экспрессии HLA-DR на Т-хелперах.

Развитие СПИДа при инфекции не R5тр ВИЧ ассоциировалось со значительно более выраженными иммунологическими нарушениями: снижением уровня Т-хелперов и иммунорегуляторного индекса, уменьшением экспрессии CXCR4+ на ЛК, CCR5 на Т-хелперах, усилением процессов активации Т-клеточного иммунитета за счет повышения экспрессии HLA-DR на лимфоцитах, ТЛ, усиления интенсивности экспрессии HLA-DR на Т-хелперах, увеличения экспрессии HLA-DR на CD8+Т-лимфоцитах, снижения содержания регуляторных CD4+CD25+ ТЛ ( $p < 0,05$ ).

При разработке подходов к ведению ВИЧ-инфицированных пациентов необходимо учитывать разные механизмы формирования иммуносупрессии в зависимости от тропизма ВИЧ.

Иммунологически обоснованным является создание условий, не допускающих переключения тропизма ВИЧ и снижающих процессы активации иммунной системы при прогрессировании ВИЧ-инфекции.

#### Список использованных источников

1. Полиморфизм гена *CCR5* и резистентность к инфицированию ВИЧ. Молекулярно-генетическое обследование общественного регистра пуповинной крови / И. А. Пирожков [и др.] // Вестн. гематологии. – 2015. – Т. 11, № 2. – С. 23–24.
2. The HIV coreceptors CXCR4 and CCR5 are differentially expressed and regulated on human T lymphocytes / C. C. Bleul [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 1997. – Vol. 94 – P. 1925–1930.
3. Low Expression of activation and inhibitory molecules on NK cells and CD4+ T cells is associated with viral control / N. A. Taborda [et al.] // AIDS Research and Human Retroviruses. – 2015. – Vol. 31 (6). – P. 636–640.
4. CCR5 interaction with HIV-1 env contributes to env-induced depletion of CD4 T cells *in vitro* and *in vivo* // Li-Chung Tsao [et al.] // Retrovirology. – 2016. – Vol. 13. – P. 22.
5. Human immunodeficiency virus type 1 biological variation and coreceptor use: from concept to clinical significance / E. M. Fenyö [et al.] // J. Intern. Med. – 2011. – Vol. 270, N 6. – P. 520–531.
6. Матиевская, Н. В. Определения тропизма и субтипов ВИЧ по нуклеотидной последовательности петли V3 белка gp120 гена env ВИЧ-1 // Н. В. Матиевская, И. О. Токунова, Д. Е. Киреев // Здоровоохранение. – 2017. – № 1. – С. 4–9.
7. Матиевская, Н. В. Ко-инфекция ВИЧ/ВГС: этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение / Н. В. Матиевская. – Гродно : Гродн. гос. мед. ун-т, 2013. – 352 с.
8. Клинико-иммунологические и эпидемиологические особенности ВИЧ-инфекции в зависимости от тропизма ВИЧ-1 / Н. В. Матиевская [и др.] // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2015. – Т. 7, № 1. – С. 52–59.
9. Chevalier, M. F. The split personality of regulatory T cells in HIV infection / M. F. Chevalier, L. Weiss // Blood. – 2013. – Vol. 121, N 1. – P. 29–37.
10. CD25+ FoxP3+ memory CD4 T cells are frequent targets of HIV infection *in vivo* / M. Chachage [et al.] // J. Virol. – 2016. – Vol. 90, N 20. – P. 8954–8967.
11. CXCR4 overexpression during the course of HIV-1 infection correlates with the emergence of X4 strains / Y. L. Lin [et al.] // J. Acquir. Immune Defic. Syndr. – 2005. – Vol. 39 (5). – P. 530–536.
12. High CD4(+) T-cell surface CXCR4 density as a risk factor for R5 to X4 switch in the course of HIV-1 infection / Y. L. Lin [et al.] // J. Acquir. Immune Defic. Syndr. – 2010. – Vol. 55 (5). – P. 529–535.

## References

1. Pirozhkov I. A., Smolianinov A. B., Chechetkin A. V., Ivolgin D. A. Polymorphism of the *CCR5* gene and resistance to HIV infection. Molecular-genetic examination of the public cord blood register. *Vestnik gematologii* [The Bulletin of Hematology], 2015, vol. 11, no. 2, pp. 23–24. (in Russian).
2. Bleul C. C., Wu L., Hoxie J. A., Springer T. A., Mackay C. R. The HIV coreceptors CXCR4 and CCR5 are differentially expressed and regulated on human T lymphocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, vol. 94, pp. 1925–1930.
3. Tabora Natalia A., Hernández Juan C., Lajoie Julie, Juno Jennifer A., Kimani Joshua, Rugeles María T., Fowke Keith R. Low expression of activation and inhibitory molecules on NK cells and CD4+ T cells is associated with viral control. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 2015, vol. 31 (6), pp. 636–640. doi:10.1089/aid.2014.0325.
4. Li-Chung Tsao, Haitao Guo, Jerry Jeffrey, James A. Hoxie and Lishan Su CCR5 interaction with HIV-1 env contributes to env-induced depletion of CD4 T cells in vitro and in vivo. *Retrovirology*, 2016, vol. 13, pp. 22. doi 10.1186/s12977-016-0255-z.
5. Fenyö E. M., Esbjörnsson J., Medstrand P., Jansson M. J. Human immunodeficiency virus type 1 biological variation and coreceptor use: from concept to clinical significance. *Internal Medicine Journal*, 2011, vol. 270 (6), pp. 520–531. doi: 10.1111/j.1365-2796.2011.02455.x. Epub 2011 Oct. 27.
6. Matievskaja N. V., Tokunova I. O., Kireev D. E. N. V. Detection tropism on and subtypes of HIV on nucleotide sequence of V3 loop protein gp120 env gene of HIV-1. *Zdravookhranenie* [Healthcare], 2017, no. 1, pp. 4–9. (in Russian).
7. Matievskaja N. V. *Co-infection HIV/HCV: etiology, epidemiology, pathogenesis, clinic, diagnostics, treatment*. Grodno, Grodnenskii gosudarstvennyi meditsinskii universitet [Grodno State Medical University], 2013, 352 p. (in Russian).
8. Matievskaja N. V., Kireev D. Y., Dmitrjukova M. Ju., Tikunova I. O., Kondratovich I. A. Clinical, immunological, and epidemiological features of HIV infection depending on the tropism of HIV-1. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2015, vol. 7, no. 1, pp. 52–59. (in Russian).
9. Chevalier M. F., Weiss L. The split personality of regulatory T cells in HIV infection. *Blood*, 2013, vol. 121, no. 1, pp. 29–37.
10. Chachage M., Pollakis G., Kuffour E. O., Haase K., Bauer A., Nadai Y., Podola L., Clowes P., Schiemann M., Henkel L., Hoffmann D., Joseph S., Bhuju S., Maboko L., Sarfo F. S., Eberhardt K., Hoelscher M. CD25+ FoxP3+ memory CD4 T cells are frequent targets of HIV Infection *in vivo*. *Journal of Virology*, 2016, vol. 90, no. 20, pp. 8954–8967. doi:10.1128/JVI.00612-16.
11. Lin Y. L., Portales P., Segondy M., Baillat V., de Boever C. M., Le Moing V., Réant B., Montes B., Clot J., Reynes J., Corbeau P. CXCR4 overexpression during the course of HIV-1 infection correlates with the emergence of X4 strains. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 2005, vol. 39, no. 5, pp. 530–536.
12. Fiser A. L., Vincent T., Brieu N., Lin Y. L., Portalès P., Mettling C., Reynes J., Corbeau P. High CD4(+) T-cell surface CXCR4 density as a risk factor for R5 to X4 switch in the course of HIV-1 infection. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 2010, vol. 55, no. 5, pp. 529–535. doi:10.1097/QAI.0b013e3181f25bab.

## Информация об авторах

*Матиевская Наталья Васильевна* – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, г. Гродно, 230015, Республика Беларусь). E-mail: natamati@mail.ru.

*Гончаров Андрей Евгеньевич* – канд. мед. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филлимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: andrei.hancharou@gmail.com.

*Токунова Ирина Олеговна* – соискатель кафедры инфекционных болезней. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, г. Гродно, 230015, Республика Беларусь).

*Киреев Дмитрий Евгеньевич* – канд. биол. наук, науч. сотрудник. Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии (ул. Новогиреевская, д. 3а, г. Москва, 111123, Российская Федерация).

## Для цитирования

Изменение показателей клеточного иммунитета и экспрессии CCR5, CXCR4 у ВИЧ-инфицированных пациентов при формировании СПИДа в зависимости от тропизма вируса / Н. В. Матиевская [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 2. – С. 61–70.

## Information about the authors

*Matsiyenskaya Natallia Vasileuna* – D. Sc. (Med.), Associate Professor, Head of the Department. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: natamati@mail.ru.

*Hancharou Andrei Yauhenavich* – Ph. D. (Med.), Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus).

*Takunova Iryna Alehauna* – Applicant of the Department of Infectious Diseases. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus).

*Kireev Dmitriy Evgenevich* – Ph. D. (Biol.), Researcher. Central Research Institute for Epidemiology (3a, Novogireevskaya Str., 111123, Moscow, Russian Federation).

## For citation

Matsiyenskaya N. V., Hancharou A. Y., Tokunova I. O., Kireev D. E. Changes in the cellular immunity and the expression of CCR5, CXCR4 in HIV-infected patients in the formation of immunosuppression depending on the viral tropism. *Vesti Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2017, no. 2, pp. 61–70.

ISSN 1814-6023 (print)

УДК 612.015.3:616.89

Поступила в редакцию 05.12.2016

Received 05.12.2016

**Е. И. Калиновская, С. Б. Кондрашова, О. Е. Полулях, А. А. Басалай, Е. Б. Лузина***Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь***СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ АДИПОКИНОВ  
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС С АЛИМЕНТАРНЫМ ОЖИРЕНИЕМ**

С целью оценки степени влияния устойчивого эмоционально-стрессового состояния на секреторную активность жировой ткани в сыворотке крови крыс с ожирением проанализированы изменения уровня гормонов жировой ткани – лептина, адипонектина и висфатина. Показано, что снижение уровня лептина в сыворотке крови в условиях хронического стресса может вызывать нарушение пищевого поведения, а уровень гормона висфатина зависит не только от количества жировой ткани.

Результаты исследования позволяют предположить, что хронический стресс на фоне ожирения ускоряет развитие инсулинорезистентности.

*Ключевые слова:* ожирение, стресс, лептин, адипонектин, висфатин.

**E. I. Kalinovskaya, S. B. Kondrashova, O. E. Poluliakh, A. A. Basalai, E. B. Luzina***Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus***STRESS-INDUCED CHANGES IN THE LEVEL OF ADIPOKINES  
IN THE BLOOD SERUM OF RATS WITH ALIMENTARY OBESITY**

In order to assess the degree of the stable emotional stress influence on the secretory activity of adipose tissue, the level of adipose tissue hormones – leptin, adiponectin, and visfatin were analyzed in the blood serum of rats with obesity. It was shown that a decrease in the leptin level on the background of chronic stress can be a factor that causes the eating disorder, and the visfatin level does not depend on the adipose tissue amount only. Also, we can suggest that chronic stress on the background of obesity accelerates the development of insulin resistance.

*Keywords:* obesity, stress, leptin, adiponectin, visfatin.

**Введение.** Хронический стресс наряду с отягощенной наследственностью, малоподвижным образом жизни, несбалансированным питанием является одной из причин развития ожирения. Общеизвестно, что при стрессе происходит избыточное высвобождение гормона кортизола, который не только играет важную роль в адаптации организма человека, но и способствует повышению аппетита [1, 2]. Следовательно, если организм длительно испытывает стрессорные воздействия, возникает замкнутый круг, приводящий со временем к развитию ожирения.

Само ожирение сегодня рассматривается как сложное хроническое заболевание, представляющее серьезную угрозу здоровью в силу сопряженных с ним сердечно-сосудистых и метаболических осложнений [3– 6]. Одним из ключевых регуляторов, которые при ожирении могут запускать развитие патологических процессов, являются гормоны жировой ткани – адипокины, среди которых нужно выделить лептин, адипонектин и висфатин [4, 7–12].

Основная физиологическая роль лептина в организме сводится к регуляции энергетического обмена и массы тела. Лептин часто называют гормоном насыщения. Считается, что он действует в гипоталамусе как блокатор синтеза и высвобождения нейропептида Y, вызывающего чувство голода [6].

Адипонектин, в отличие от лептина, выполняет защитную функцию, повышая чувствительность тканей к инсулину и оказывает кардиопротективные эффекты [7].

Физиологическая роль гормона висфатина активно изучается, имеются данные, которые указывают на его участие в развитии сердечно-сосудистой патологии и метаболических изменений при ожирении [4, 8, 9]. Учитывая, что данный гормон действует подобно инсулину, можно предположить, что при ожирении он причастен к патогенезу инсулинорезистентности, сахарного диабета и их осложнений.

По-видимому, адипокины играют важную роль в развитии ранних сосудисто-метаболических осложнений, но однозначных доказательств этому на сегодняшний день нет.

Цель работы – оценить влияние устойчивого эмоционально-стрессового состояния на уровень гормонов жировой ткани – лептина, адипонектина и висфатина в сыворотке крови крыс на модели алиментарного ожирения.

**Материалы и методы исследования.** Опыты проводили на половозрелых беспородных крысах-самцах стандартной разводки вивария ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси». Все экспериментальные работы выполняли с соблюдением правил биоэтики, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для лабораторных или иных целей.

Для моделирования ожирения к рациону вивария в течение 3 мес. добавляли жировой компонент: 3 г сала ежедневно при исходной массе тела крыс 200 г [13]. Устойчивое эмоционально-стрессовое состояние вызывали путем иммобилизации, помещая животных в специальные узкие пеналы ежедневно на 60 мин в течение 10 сут [14]. Все животные были разделены на 4 группы (по 10 животных в каждой):

группа 1 («Контроль») – крысы, находившиеся на рационе вивария (состояние физиологической нормы);

группа 2 («Стресс») – интактные животные, подвергавшиеся хроническому иммобилизационному стрессу;

группа 3 («Ожирение + стресс») – животные с ожирением, подвергавшиеся хроническому иммобилизационному стрессу;

группа 4 («Ожирение») – животные с алиментарным ожирением.

По окончании срока эксперимента крыс всех групп декапитировали с помощью гильотины и производили забор периферической крови.

Для оценки степени стрессорного воздействия иммуноферментным методом на ИФА-анализаторе BioTekELx80 (США) измеряли уровень кортикостерона (аналог кортизола у людей) в сыворотке крови, регистрировали массу надпочечников.

Поскольку при интенсивном или длительном стрессорном воздействии на организм происходит активация процесса свободнорадикального окисления в клетках, определяли показатели системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» (ПОЛ–АОЗ) [2, 15]. Об интенсивности ПОЛ судили по изменению уровня его основного продукта – малонового диальдегида (МДА), содержание которого определяли по реакции с 2'-тиобарбитуровой кислотой. Активность супероксиддисмутазы (СОД), ключевого фермента антиокислительных систем, исследовали исходя из степени торможения реакции окисления кверцетина. Каталазную активность (предотвращение накопления перекиси водорода, образующейся при дисмутации супероксидного аниона) оценивали с помощью спектрофотометрического метода, основанного на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс.

Измерение экстинкции анализируемых растворов проводили на ИФА-анализаторе BioTekELx80 (США).

Для подтверждения правильности выбора модели алиментарного ожирения в течение всего эксперимента проводили мониторинг массы тела, а после декапитации животных препарировали и взвешивали внутренние органы, оценивали процент содержания висцеральной жировой ткани.

На биохимическом анализаторе BS-200 (Китай) с использованием реактивов Randox (Великобритания) и Диасенс (Беларусь) в сыворотке крови определяли уровни общего холестерина (ОХ), липопротеинов высокой и низкой плотности (ЛПВП, ЛПНП), триацилглицеридов (ТГ), глюкозы, ферментов амилазы и липазы. В ткани печени оценивали содержание общих фосфолипидов, используя метод, основанный на выявлении неорганического фосфора, образованного при кислотном гидролизе фосфолипидов [16].

Уровни гормонов жировой ткани (лептина, адипонектина, висфатина) оценивали методом иммуноферментного анализа на анализаторе Chem Well (США) с использованием тест-систем DRG (Германия).

Полученные данные статистически обрабатывали с помощью программы Statistica 6.0.

Нормальность распределения показателей проверяли при помощи теста Шапиро–Уилка. Для межгруппового сравнения использовали  $t$ -критерий Стьюдента для независимых выборок или непараметрический тест Манна–Уитни. Результаты представлены в виде средней величины и стандартной ошибки средней ( $X_{\text{ср}} \pm S_{\text{ср}}$ ). Критический уровень значимости ( $p$ ) при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05.

**Результаты и их обсуждение.** При оценке результатов исследования выявлено, что у крыс групп «Стресс» и «Ожирение + стресс» масса надпочечников по сравнению с контролем была достоверно увеличена (в 2,5 и в 2 раза соответственно). Данный факт можно объяснить как компенсаторную гипертрофию, связанную с тем, что надпочечники в условиях хронического стрессорного воздействия испытывали значительное функциональное напряжение. В этих же группах в сыворотке крови животных существенно снизилось содержание основного физиологически активного гормона – кортикостерона, главного индикатора реакции организма крысы на стрессовое воздействие, подобного кортизолу у человека (табл. 1). Представленные в табл. 1 данные указывают на факт истощения механизмов стресс-регуляции, что отмечается также и другими исследователями [17].

При анализе показателей системы ПОЛ–АОЗ по сравнению с таковыми в контрольной группе установлено увеличение содержания МДА ( $p \leq 0,05$ ) в сыворотке крови животных всех экспериментальных групп, в то же время снижение активности СОД и каталазы отмечалось как у животных, подвергнутых устойчивому эмоционально-стрессовому воздействию, так и у крыс группы «Ожирение + стресс» (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Изменение уровней кортикостерона, малонового диальдегида, активности супероксиддисмутазы и каталазы в сыворотке крови крыс с ожирением в условиях хронического стресса ( $X_{\text{ср}} \pm S_{\text{ср}}$ )

Table 1. Changes in the corticosterone and malondialdehyde levels and in the superoxide dismutase and catalase activity in the blood serum of rats with obesity under chronic stress ( $X_{\text{ср}} \pm S_{\text{ср}}$ )

Группа животных	Показатель	Кортикостерон, нмоль/л	МДА, нмоль/л	СОД, У/мл	Каталаза, мкат/л
«Контроль» ( $n = 10$ )		0,170 $\pm$ 0,04	10,580 $\pm$ 0,868	3,463 $\pm$ 0,236	8,303 $\pm$ 0,711
«Стресс» ( $n = 10$ )		0,050 $\pm$ 0,03*	15,339 $\pm$ 0,397*	1,771 $\pm$ 0,092*	4,761 $\pm$ 0,237*
«Ожирение + стресс» ( $n = 10$ )		0,071 $\pm$ 0,03*	19,642 $\pm$ 0,396*	1,360 $\pm$ 0,080*	1,752 $\pm$ 0,177*
«Ожирение» ( $n = 10$ )		0,016 $\pm$ 0,03	14,287 $\pm$ 0,966*	3,309 $\pm$ 0,268	8,032 $\pm$ 0,819

П р и м е ч а н и е. \* – достоверные отличия от контроля ( $p \leq 0,05$ ).

Существенную роль в возникновении наблюдаемых изменений могли играть развивающийся метаболический ацидоз, нарушение транспорта кислорода и уменьшение продукции основных макроэргических соединений [9]. В то же время снижение эффективности функционирования системы АОЗ, скорее всего, вызвано не только падением уровня антиоксидантов или ингибированием антиперекисных ферментов, но и блокированием процессов поставки водорода при действии, например, метаболических ядов или иных факторов [2, 15].

В группе экспериментальных животных с ожирением мониторинг массы тела показал превышение данного показателя на 18,8 %, масса почек увеличилась на 26,0 %, селезенки – на 33,0, количество висцерального жира – на 80,0 %, наблюдалось достоверное ( $p \leq 0,05$ ) снижение содержания общих фосфолипидов в ткани печени (на 47,0 %) по отношению к контролю. Уровень ТГ составил 1,930  $\pm$  0,174 ммоль/л, что на 30,0 % превышало их контрольные значения (1,468  $\pm$  0,172 ммоль/л). Полученные данные можно объяснить относительной фосфолипидной недостаточностью, обусловленной нарушением метаболической активности печени при ожирении.

Анализ биохимических показателей крови показал, что только в группе «Ожирение + стресс» отмечалось повышение уровней ОХ (0,98  $\pm$  0,07 ммоль/л – в контроле, 1,58  $\pm$  0,07 ммоль/л – в эксперименте), ЛПНП (0,1  $\pm$  0,02 и 0,16  $\pm$  0,02 ммоль/л соответственно) и ЛПВП (0,5  $\pm$  0,055 и 0,8  $\pm$  0,060 ммоль/л соответственно) ( $p \leq 0,05$ ). Скорее всего, это обусловлено регуляторным действием глюкокортикоидов, которые, как известно, увеличивают продукцию липидов гепатоцитами путем усиления экспрессии гена синтазы жирных кислот [18]. В этой же группе наблюдалось и достоверное по сравнению с контролем повышение уровня глюкозы – (3,6  $\pm$  0,18)–(4,9  $\pm$  0,20) ммоль/л.

Данные о содержании ферментов липазы и амилазы представлены в табл. 2. В условиях «чистого» стресса и его сочетанного с ожирением воздействия наблюдали повышение уровней липазы и амилазы в крови ( $p \leq 0,05$ ), что может свидетельствовать о начале воспалительного процесса в ткани поджелудочной железы. Как известно из литературы [19], развитие панкреатита обусловлено, как правило, активацией ферментов панкреатического сока вследствие вызванной стрессом регургитации в протоки содержимого двенадцатиперстной кишки, в том числе желчи.

Таблица 2. Изменение активности липазы и амилазы в сыворотке крови при устойчивом эмоционально-стрессовом состоянии крыс с алиментарным ожирением ( $X_{cp} \pm S_{xcp}$ )

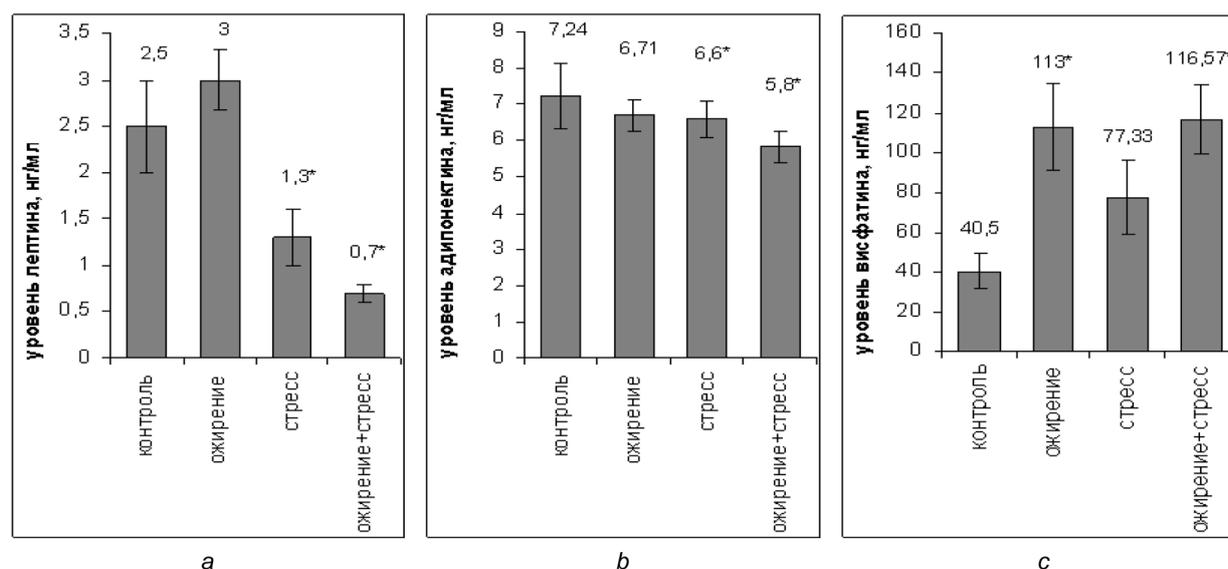
Table 2. Changes in the lipase and amylase activity in the blood serum under stable emotional stress of rats with alimentary obesity ( $X_{cp} \pm S_{xcp}$ )

Показатель	Группа животных	«Контроль» (n = 10)	«Стресс» (n = 10)	«Ожирение + стресс» (n = 10)	«Ожирение» (n = 10)
Амилаза, Ед/л		973,8 ± 33,1	1470,6 ± 129,4*	1789,2 ± 148,5*	1076,5 ± 21,3
Липаза, Ед/л		23,8 ± 0,5	155,3 ± 14,2*	211,2 ± 59,2*	21,3 ± 2,6

Примечание. \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группой контроля.

Изучение содержания гормонов жировой ткани показало, что уровень лептина в сыворотке крови достоверно снижался у животных в группах «Стресс» и «Ожирение + стресс», в то время как в группе «Ожирение» его количество было несколько повышено ( $p \geq 0,05$ ) (см. рисунок, а), что в последнем случае объясняется увеличением объема жировой ткани и связанным с этим усилением секреции данного гормона [12].

У экспериментальных особей всех групп отмечали однонаправленную тенденцию к уменьшению количества адипонектина в крови (см. рисунок, б). Также нами установлена отрицательная корреляция со слабой связью ( $r = -0,2$ ) между уровнями адипонектина и глюкозы в группе «Ожирение + стресс». Возможно, хронический стресс при наличии алиментарного ожирения ускоряет развитие инсулинорезистентности, поскольку уменьшение содержания в крови адипонектина напрямую связано со снижением чувствительности к инсулину [7]. Данное предположение требует конкретного подтверждения в рамках более полного и целенаправленного исследования.



Изменение уровней гормонов лептина (а), адипонектина (б) и висфатина (с) в сыворотке крови крыс с алиментарным ожирением, подвергнутых хроническому эмоционально-стрессовому воздействию ( $n = 10$  для каждой группы). \* – достоверные отличия от контроля ( $p < 0,05$ )

Changes in the hormone levels of leptin (a), adiponectin (b) and visfatin (c) in the blood serum of rats with alimentary obesity under chronic emotional stress ( $n = 10$  for each group). \* – reliable differences from control ( $p < 0.05$ )

Установлено возрастание уровня висфатина в крови (по сравнению с контролем) у животных всех экспериментальных групп, особенно отчетливо проявляющееся при ожирении и стрессе на фоне ожирения ( $p \leq 0,05$ ) (см. рисунок, с). Скорее всего, данный факт обусловлен увеличением количества жировой ткани. В условиях хронического стресса концентрация висфатина в сыворотке крови также была повышена, что может быть связано с более сложными биохимическими реакциями при его обмене.

Нами также показана положительная корреляция ( $r = +0,8$ ) между уровнями кортикостерона и висфатина в группе «Ожирение + стресс». Вероятно, при стрессе происходит усиление экспрессии гена висфатина глюкокортикоидами. Это является возможным механизмом, участвующим в процессе секреции гормонов жировой тканью.

**Заключение.** Таким образом, анализ полученных результатов позволяет сделать вывод о том, что снижение уровня лептина в крови в условиях хронического стресса может быть фактором, нарушающим пищевое поведение.

На данном этапе исследований, касающихся содержания адипонектина в крови, можно предположить, что хронический стресс на фоне ожирения ускоряет развитие инсулинорезистентности тканей и органов организма.

Уровень гормона висфатина зависит не только от количества жировой ткани, его секреция основывается на более сложном механизме и, возможно, связана с усилением экспрессии гена висфатина глюкокортикоидами.

**Благодарность.** Исследования выполнены при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в рамках проекта № M14-071.

**Acknowledgement.** The study was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research within the framework of the Project No. M14-071.

#### Список использованных источников

1. Akbaraly, T. N. Association between metabolic syndrome and depressive symptoms in middle-aged adults: results from the Whitehall II study / T. N. Akbaraly, M. Kivimaki, E. J. Brunner // *Diabetes Care*. – 2009. – Vol. 32, N 3. – P. 499–504.
2. Gasparovic, A. C. Assays for the measurement of lipid peroxidation / A. C. Gasparovic, M. Jaganjac, B. Mihaljevic // *Methods Mol. Biol.* – 2013. – Vol. 965. – P. 283–296.
3. Данилова, Л. И. Распространенность дефицита массы тела, избыточной массы тела и ожирения у детей 7–13 лет Минска и Мозыря / Л. И. Данилова, Е. Г. Вайнилович, М. Л. Лушик // *Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук*. – 2011. – № 4. – С. 52–60.
4. Косыгина, А. В. Новое в патогенезе ожирения: адипокины – гормоны жировой ткани / А. В. Косыгина, О. В. Васюкова // *Проблемы эндокринологии*. – 2009. – Т. 55, № 1. – С. 44–50.
5. Мичурина, С. В. Морфологические изменения в печени крыс Вистар с моделью алиментарного ожирения / С. В. Мичурина, Д. В. Васендин, И. Ю. Ищенко // *Вестн. Иванов. мед. акад.* – 2014. – Т. 19, № 4. – С. 34–43.
6. Cohen, B. E. Psychological risk factors and the metabolic syndrome in patients with coronary heart disease: findings from the heart and soul study / B. E. Cohen, N. B. Panguluri, M. A. Whooley // *Psychiatry Res.* – 2010. – Vol. 175, N 1/2. – P. 133–137.
7. Парфенова, Н. С. Адипонектин: благоприятное воздействие на метаболические и сердечно-сосудистые нарушения / Н. С. Парфенова, Д. А. Танянский // *Артериал. гипертензия*. – 2013. – № 3. – С. 84–96.
8. Fukuhara, A. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin / A. Fukuhara, M. Matsuda, M. Nishizawa // *Science*. – 2005. – Vol. 307. – P. 426–430.
9. Visfatin may be a novel marker for identifying stages of essential hypertension in advanced age patients / F. Gunes [et al.] // *Intern. Med.* – 2012. – Vol. 51, N 6. – P. 553–557.
10. Plasma visfatin/nicotinamide phosphoribosyltransferase (visfatin/NAMPT) concentration in elderly subjects with metabolic syndrome / P. Kocciak [et al.] // *Pol. Arch. Med. Wewn.* – 2015. – Vol. 125, N 6. – P. 402–413.
11. Adipokines and cardiometabolic function: how are they interlinked? / A. Schutte [et al.] // *Regulatory Peptides*. – 2010. – Vol. 164 – P. 133–138.
12. Regulation of leptin production: a dominant role for the sympathetic nervous system / P. Trayhurn [et al.] // *Proc. Nutr. Soc.* – 2001. – Vol. 57. – P. 413–419.
13. Макро-микроэлементный состав легочной ткани при алиментарном ожирении / Б. В. Чурин [и др.] // *Фундам. исслед.* – 2012. – № 8. – С. 179–183.
14. Бузуева, И. И. Влияние хронического стресса на структуру надпочечника крыс / И. И. Бузуева, Е. Е. Филюшина, М. Д. Шмерлинг // *Бюл. СО РАМН*. – 2010. – Т. 30, № 4. – С. 56–61.

15. Формирование компенсаторного ответа в системе перекисное окисление–антиоксидантная защита / Т. П. Новгородцева [и др.] // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2011. – № 2. – С. 44–46.
16. Folch, I. A simple method for the isolation and purification of total lipids animal tissue (for brain, liver and muscle) / I. Folch, M. Lees, G. H. Sloan-Stanley // *J. Biol. Chem.* – 1957. – Vol. 226. – P. 497–509.
17. Kulwinder, Singh Biing-Jiun Shen. Abdominal obesity and chronic stress interact to predict blunted cardiovascular reactivity // *Intern. J. of Psychophysiol.* – 2013. – Vol. 90. – P. 73–79.
18. Ashley, J. P. The effects of glucocorticoids on adipose tissue lipid metabolism / J. P. Ashley, C. W. David, C. R. Michael // *Metabolism Clin. and Experim.* – 2011. – Vol. 60. – P. 1500–1510.
19. Цветкова, Л. Н. Панкреатическая недостаточность у детей // *Вопр. соврем. педиатрии.* – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 60–66.

## References

1. Akbaraly T. N., Kivimaki M., Brunner E. J., Chandola N., Marmot M. J., Singh-Manoux A., Ferrie E. J., Association between metabolic syndrome and depressive symptoms in middle-aged adults: results from the Whitehall II study. *Diabetes Care*, 2009, vol. 32, no. 3, pp. 499–504.
2. Gasparovic A. C., Jaganjac M., Mihaljevic B., Sunjic S. B., Zarcovic N. Assays for the measurement of lipid peroxidation. *Methods of Molecular Biology*, 2013, vol. 965, pp. 283–296.
3. Danilova L. I., Vaynilovich E. G., Lushchik M. L. Prevalence of body weight deficit, overweight and obesity in children 7–13 years of Minsk and Mozyr. *Vestsi Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2011, no. 4, pp. 52–60. (in Russian).
4. Kosygina A. V. New in the pathogenesis of obesity: adipokines – hormones adipose tissue. *Problemy jendokrinologii* [Problems of Endocrinology], 2009, vol. 55, no. 1, pp. 44–50. (in Russian).
5. Michurina C. V., Vasendin D. V., Ishchenko I. Y. Morphological changes in the liver of Wistar rats with alimentary obesity model. *Vestnik Ivanovskoj medicinskoj akademii* [Bulletin of the Ivanovo Medical Academy], 2014, vol. 19, no. 4, pp. 34–43. (in Russian).
6. Cohen B. E., Panguluri N. B., Whooley M. A. Psychological risk factors and the metabolic syndrome in patients with coronary heart disease: findings from the heart and soul study. *Psychiatry Research*, 2010, vol. 175, no. 1–2, pp. 133–137.
7. Parfenova N. S., Tanyansky D. A. Adiponectin: a beneficial effect on metabolic and cardiovascular disorders. *Arterial'naja gipertenzija* [Arterial hypertension], 2013, no. 3, pp. 84–96. (in Russian).
8. Fukuhara A., Matsuda M., Nishizawa M., Segava K., Tanaka M., Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science*, 2005, vol. 307, pp. 426–430.
9. Gunes F., Akbal E., Cakir E., Akyurek O., Altunbas M., Ozbek M. Visfatin may be a novel marker for identifying stages of essential hypertension in advanced age patients. *Internal Medicine*, 2012, vol. 51, no. 6, pp. 553–557.
10. Koceiak P., Olszanecka-Glinianowicz M., Owczarek A. J., Krupa W. Plasma visfatin/nicotinamide phosphoribosyl-transferase (visfatin/NAMPT) concentration in elderly subjects with metabolic syndrome. *Polish Archives of International Medicine*. *Wewn*, 2015, vol. 125, no. 6, pp. 402–413.
11. Schutte A., Huisman H., Schutte R., van Rooyen J., Malan L., Malan N., Fourie C., Adipokines and cardiometabolic function: How are they interlinked? *Regulatory Peptides*, 2010, vol. 164, pp. 133–138.
12. Trayhurn P., Duncan J. S., Hoggard N., Rayner D. V. Regulation of leptin production: a dominant role for the sympathetic nervous system. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2001, vol. 57, pp. 413–419.
13. Churin B. V., Trunov V. A., Zverev V. V., Sidorina A. V., Astashov V. V. Macro-trace element composition of lung tissue in the alimentary obesity. *Fundamental'nye issledovaniya* [Basic Research], 2012, no. 8, pp. 179–183. (in Russian).
14. Buzueva I. I., Filyushina E. E., Schmerling M. J. Effect of chronic stress on the structure of the adrenal gland of rats. *Bjulleten' SO RAMN* [Bulletin SB RAMS], 2010, vol. 30, no. 4, pp. 56–61. (in Russian).
15. Novgorodtseva T. P., Witkin T. I., Lobanova E. G., Karaman J. K. Formation of a compensatory response in the system peroxidation–antioxidant protection. *Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija* [Pathological Physiology and Experimental Therapy], 2011, no. 2, pp. 44–46. (in Russian).
16. Folch I., Lees M., Sloan-Stanley G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids animal tissue (for brain, liver and muscle). *Journal of Biological Chemistry*, 1957, vol. 226, pp. 497–509.
17. Kulwinder Singh, Biing-Jiun Shen. Abdominal obesity and chronic stress interact to predict blunted cardiovascular reactivity. *International Journal of Psychophysiology*, 2013, vol. 90, pp. 73–79.
18. Ashley J., Peckett David C. Wright, Michael C. Riddell. The effects of glucocorticoids on adipose tissue lipid metabolism. *Metabolism Clinical and Experimental*, 2011, vol. 60, pp. 1500–1510.
19. Tsvetkova L. N. Pancreatic insufficiency in children. *Voprosy sovremennoj pediatrii* [Problems. Current Pediatrics], 2003, vol. 2, no. 3, pp. 60–66. (in Russian).

### Информация об авторах

*Калиновская Елена Игоревна* – канд. мед. наук, заведующий лабораторией. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: zolotuhinaelena@mail.ru.

*Кондрашова Светлана Болеславовна* – ст. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

*Полулях Ольга Евгеньевна* – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

*Басалай Анастасия Александровна* – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

*Лузина Евгения Борисовна* – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

### Для цитирования

Стресс-индуцированные изменения уровня адипокинов в сыворотке крови крыс с алиментарным ожирением / Е. И. Калиновская [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 2. – С. 71–77.

### Information about the authors

*Kalynovskaya Elena* – Ph. D. (Med.), Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zolotuhinaelena@mail.ru.

*Kondrashova Svetlana Boleslavovna* – Senior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

*Poluliakh Olga Evgenievna* – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

*Basalai Anastasia Aleksandrovna* – Junior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

*Luzina Evgenia Borisovna* – Junior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

### For citation

Kalinovskaya E. I., Kondrashova S. B., Poluliakh O. E., Basalai A. A., Luzina E. B. Stress-induced changes in the level of adipokines in the blood serum of rats with alimentary obesity. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2017, no. 2, pp. 71–77.

**Л. А. Державец**

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

### **ФАКТОРЫ РОСТА, АНГИОГЕНЕЗА И МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ**

В статье представлены данные о содержании факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии и их рецепторов (VEGF, EGF, FGF, TNF- $\alpha$ , sICAM, sPECAM, эндостатин, p55, p185) в биологических жидкостях пациентов, страдающих раком мочевого пузыря I–IV стадии. В исследование были включены 945 онкологических пациентов и 120 клинически здоровых лиц. Диагноз рака мочевого пузыря верифицировали морфологически. Все вышеперечисленные лабораторные показатели определяли методом иммуноферментного анализа до начала всех видов обследования и специального лечения. Для обработки полученных результатов использовали непараметрические методы статистики. В ходе исследования выявлены информативные показатели для дооперационной оценки степени инвазии опухоли мочевого пузыря (sICAM, VEGF, sPECAM, p55, p185, FGF), количества опухолевых очагов (p185, sICAM, p55, FGF, TNF- $\alpha$ ), степени злокачественности (VEGF, p55, sPECAM, sICAM, p185, эндостатин) опухолевого процесса. Для оценки интегральной диагностической информативности исследуемых показателей использовали метод построения характеристических ROC-кривых с расчетом площади под этими кривыми. Определяли диагностическую чувствительность и диагностическую специфичность каждого показателя.

*Ключевые слова:* рак мочевого пузыря; факторы роста, ангиогенеза и межклеточной адгезии; диагностическая информативность.

**L. A. Derzhavets**

*N. N. Alexandrov National Cancer Center, Minsk, Republic of Belarus*

### **FACTORS OF GROWTH, ANGIOGENESIS AND INTERCELLULAR ADHESION FOR EVALUATION OF BLADDER CANCER SPREAD**

The article provides the data on the concentrations of factors of growth, angiogenesis, intercellular adhesion and their receptors (VEGF, EGF, FGF, TNF- $\alpha$ , sICAM, sPECAM, endostatin, p55, p185) in body fluids of stage I–IV bladder cancer patients. 945 cancer patients and 120 clinically healthy individuals were included in the study. Bladder cancer was morphologically verified in all cases. The above-mentioned laboratory indices were evaluated by immunoassay before the beginning of examination or treatment. Results were analyzed using nonparametric statistics. Informative indices for preoperative assessment of tumor invasion (sICAM, VEGF, sPECAM, p55, p185, FGF), the number of tumor foci (p185, sICAM, p55, FGF, TNF- $\alpha$ ) and tumor grade (VEGF, p55, sPECAM, sICAM, p185, endostatin) were identified. ROC curves were plotted and AUCs were calculated to assess the diagnostic value of the indices. The sensitivity and specificity of all indices were evaluated.

*Keywords:* bladder cancer, factors of growth, angiogenesis, intercellular adhesion, diagnostic value.

**Введение.** В настоящее время пристальное внимание исследователей уделяется проблеме неоангиогенеза в злокачественных опухолях, в том числе и при раке мочевого пузыря (РМП), так как уже не вызывает сомнения тот факт, что рост опухоли невозможен без образования разветвленной сети сосудов, обеспечивающих снабжение клеток кислородом и питательными веществами. Интерес к этой проблеме возник более 40 лет назад, когда J. Folkman [1] сформулировал концепцию зависимости опухолевого роста и метастазирования от кровоснабжения опухоли. И лишь относительно недавно, последние 10–15 лет, в результате изучения молекулярных механизмов ангиогенеза продемонстрировано наличие целого ряда регуляторных проангиогенных и антиангиогенных факторов, динамический баланс которых и обеспечивает формирование и распространение новых сосудов внутри опухоли [2, 3]. Индукция «ангиогенного переключения» происходит тогда, когда баланс вышеуказанных факторов сдвигается в сторону проангиогенных.

Дискоординация между воздействием проангиогенных и антиангиогенных субстанций приводит к формированию незрелых сосудов с нарушенной структурой сосудистой стенки, неправильной архитектоникой. Такая «неполноценность» во многом компенсируется повышенной проницаемостью этих сосудов и их большей плотностью на единицу площади [4].

В регуляции ангиогенеза тем или иным образом участвуют многие известные факторы роста и цитокины: основные и кислые факторы роста фибробластов (FGF), эпидермальный фактор роста (EGF),  $\alpha$ - и  $\beta$ -трансформирующие факторы роста, тромбоцитарный фактор роста эндотелиальных клеток, факторы межклеточной адгезии (sICAM, sPECAM) [5]. Факторы роста – полипептиды, объединенные в группу трофических регуляторных субстанций. Подобно гормонам, эти факторы обладают широким спектром биологического воздействия на многие клетки – стимулируют или ингибируют митогенез, хемотаксис, дифференцировку. В отличие от гормонов, факторы роста, как правило, продуцируются неспециализированными клетками, находящимися во всех тканях, и обладают эндокринным, паракринным и аутокринным действием. Эти факторы вырабатываются и транспортируются к удаленным клеткам-мишеням через кровотоки. Достигая своей «цели», они взаимодействуют со специализированными высокоаффинными рецепторами клеток-мишеней [6].

Важнейшим положительным регулятором ангиогенеза является фактор роста эндотелия сосудов (Vascular Endothelial Growth Factor — VEGF). VEGF влияет на развитие новых кровеносных сосудов (ангиогенез) и выживание незрелых кровеносных сосудов (сосудистая поддержка), связываясь с двумя близкими по строению мембранными тирозинкиназными рецепторами (рецептором-1 VEGF и рецептором-2 VEGF) и активируя их. Эти рецепторы экспрессируются клетками эндотелия стенки кровеносных сосудов. Связывание VEGF с этими рецепторами запускает сигнальный каскад, который в конечном итоге стимулирует рост эндотелиальных клеток сосуда, их выживание и пролиферацию [7].

В отдельных исследованиях показано, что при РМП увеличивается как экспрессия VEGF опухолевыми клетками, так и содержание его в сыворотке крови [8]. Подъем уровня VEGF в крови и в моче рассматривается в качестве показателя рецидивов и прогрессирования опухолевого процесса [9, 10]. Однако однозначного мнения о роли VEGF в патогенезе РМП не существует. При иммуногистохимических исследованиях биоптатов установлено, что уровень экспрессии VEGF клетками рака выше, чем при доброкачественных образованиях. Наибольшие значения этого показателя выявлены при распространенных формах рака [11]. Однако, по данным других исследователей, различия в показателях экспрессии VEGF при раке и доброкачественных опухолях статистически недостоверны [12].

Другим ведущим регулятором неоангиогенеза является фактор роста фибробластов. В целом ростовые факторы семейства FGF обладают широким спектром мишеней и разной биологической активностью. Они являются мощными модуляторами клеточной дифференцировки, пролиферации, подвижности и выживаемости. Возможная роль факторов роста фибробластов при таком патологическом процессе, как канцерогенез, стала очевидной после обнаружения в этом семействе протоонкогенов. Кроме активации фибробластов в плане пролиферативного эффекта, клетками-мишенями FGF являются эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки сосудов, хондроциты, меланоциты и др. Клинические данные подтверждают роль FGF в опухолевом неоангиогенезе. Так, повышение уровня этого фактора коррелирует со степенью агрессивности процесса при многих солидных опухолях, в том числе и при РМП, лейкозах, лимфомах у детей и взрослых, и может служить прогностическим фактором агрессивности опухолевого процесса [6, 13].

Эпидермальный фактор роста (EGF — Epidermal Growth Factor, урогастрон), впервые выделенный из слюнных желез мыши, впоследствии обнаружен во многих нормальных и патологически измененных тканях, в крови, моче, цереброспинальной жидкости, молоке, слюне, желудочном и панкреатическом соке. Повышенная экспрессия EGF усиливает инвазию и метастазирование опухоли, запуская целый каскад внутриклеточных процессов, инициирующих клеточную пролиферацию и ряд других биологических эффектов, ответственных за опухолевую прогрессию: адгезию и инвазию трансформированных клеток, включение антиапоптотических механизмов [14].

Активация и гиперэкспрессия клеточных онкогенов, как известно, играет важную роль в развитии злокачественных опухолей различной этиологии. Одним из важнейших продуктов экспрессии

онкогенов является рецептор, известный как Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 (HER-2), HER-2/neu или c-erbB-2. Молекулярная масса рецептора HER-2/neu составляет 185 кДа, поэтому его также иногда называют белком p185. Гиперэкспрессия белка p185 характерна для большинства злокачественных новообразований. В качестве рецептора фактора роста p185 может быть вовлечен в регуляцию клеточного роста и трансформации. Наличие у p185 как внутриклеточной, так и экстраклеточной части приводит к тому, что в процессе димеризации может происходить деградация молекулы рецептора и миграция его внеклеточного домена в межклеточную среду и кровь. Так как внеклеточный домен p185 поступает в кровь, то, возможно, его определение в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа способно заменить (или дополнить) исследования на тканевом уровне [15–17].

Клетки поддерживают связь друг с другом и с внеклеточным матриксом посредством специальных структур, компонентами которых являются иммуноглобулиноподобные молекулы межклеточной адгезии, кадхерины, интегрины, селектины, а также десмосомы и полудесмосомы. Опухолевые клетки в процессе инвазии вступают во взаимодействие с клетками и различными структурами внеклеточного матрикса, сосудистым эндотелием благодаря широкому спектру молекул межклеточной адгезии, локализующихся на поверхности как опухолевых, так и нормальных эндотелиальных клеток и клеток, циркулирующих в кровотоке. В связи с этим такие адгезивные гликопротеины, как молекула межклеточной адгезии ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1) и молекула тромбоцитарно-эндотелиальной адгезии PECAM-1 (Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1), могут выступать в роли факторов инвазии и прогрессирования опухолевого процесса. В последнее время в ряде работ приводятся данные о возможности исследования ICAM-1 и PECAM-1 для диагностики и прогноза РМП [18–20].

Важную роль в нарушении процессов пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток при неотрансформации играет фактор некроза опухоли TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ). TNF- $\alpha$  – мощный паракринный и аутокринный медиатор воспаления и иммунного ответа, который принимает участие в патогенезе различных заболеваний, включающих онкологическую патологию. Участие TNF- $\alpha$  в патологии легко можно определить по связыванию с рецепторным белком p55. Белок p55, или растворимый рецептор фактора некроза опухоли TNF-R1, известный также как CD120a, экспрессируется клетками большинства тканей. Он стабилизирует циркулирующий TNF- $\alpha$  и увеличивает период полураспада данного фактора. Высокий уровень растворимого p55 в крови является чувствительным маркером активно прогрессирующих, постоянно рецидивирующих и метастазирующих опухолей [21–23].

В настоящее время доказано, что эндогенные ингибиторы ангиогенеза – один из главных факторов предупреждения активного перехода к клинически манифестируемым этапам онкологических заболеваний человека. Одним из наиболее активных естественных антиангиогенных соединений является эндостатин – протеолитический фрагмент коллагена XVIII типа. Показана высокая противоопухолевая активность эндостатина *in vivo*: белок подавляет прогрессию более 60 различных опухолей [24, 25].

Таким образом, исследование вышеперечисленных факторов при онкологической патологии мочевого пузыря является актуальным. Несмотря на то что в последние годы накапливается все больше данных о нарушениях нормальной экспрессии и функционирования факторов роста, ангиогенеза и межклеточной адгезии при РМП, их влияние на клиническое течение и прогноз заболевания изучено недостаточно. В настоящее время нет сведений о диапазоне значений и пороговых величинах каждого из рассматриваемых выше лабораторных показателей для мышечно-инвазивного и немышечно-инвазивного РМП, нет данных о чувствительности и специфичности этих параметров для прогноза РМП, не сформирована клиничко-лабораторная концепция их использования в онкологии.

Цель данного исследования – оценка диагностической информативности факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии и растворимых форм их рецепторов для определения распространенности рака мочевого пузыря (стадия заболевания, степень инвазии, количество опухолевых очагов, степень злокачественности).

**Материалы и методы исследования.** Материалом для исследования послужили данные 945 пациентов (772 мужчин и 173 женщин) с впервые установленным диагнозом РМП, получавших

лечение в отделении онкоурологической патологии Республиканского научно-практического центра онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова в 2002–2010 гг. Возраст пациентов варьировался от 25 до 85 ( $65,3 \pm 11,2$ ) лет. Диагноз РМП устанавливали на основании клинико-инструментальных методов исследования с обязательной морфологической верификацией. Группу контроля составили 120 клинически здоровых лиц, сопоставимых с основной группой по полу ( $p = 0,50$ ) и возрасту ( $p = 0,49$ ). Распространение опухолевого процесса определяли в соответствии с Международной классификацией злокачественных новообразований TNM. I стадия опухолевого процесса, немышечно-инвазивный рак (T1N0M0), диагностирована у 552 пациентов, II (T2a–bN0M0) – у 193, III (T3a–b, 4aN0M0) – у 102 и IV стадия (T4bN0M0, T1–4N1–3M0, T1–4N0–3M1) – у 98 пациентов. Степень дифференцировки опухоли определялась при ее морфологической верификации. В зависимости от степени дифференцировки (Grade) пациенты, страдающие немышечно-инвазивным РМП, распределились следующим образом: G1 (высокая степень дифференцировки) – 362 пациента, G2 (средняя степень дифференцировки) – 156, G3 (низкая степень дифференцировки) – 34 пациента. У 266 пациентов с немышечно-инвазивным раком обнаружен единичный опухолевый очаг в мочевом пузыре, у 286 – множественные опухолевые очаги. У всех обследованных пациентов до начала специального лечения проводилось определение в биологических жидкостях концентрации факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии и растворимых форм их рецепторов: Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Fibroblast Growth Factor (FGF), Epidermal Growth Factor (EGF), Intercellular Adhesion Molecule (sICAM), Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule (sPECAM), Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Tumor Necrosis Factor Receptor p55, Transmembrane HER2-neu receptor p185, эндостатин иммуноферментным методом на анализаторе Brio-Sirio “Seac” (Италия) с использованием стандартных наборов.

Статистический анализ полученных результатов выполняли с помощью программного обеспечения STATISTICA 8.0. Математическая обработка лабораторных данных включала проверку нормальности распределения количественных показателей в выборке с использованием критерия Шапиро–Уилка – *W*-test (Shapiro–Wilk’s). Количественные значения показателей, не подчинявшихся нормальному закону распределения, описывали в виде медианно-квартильных характеристик: медианы, 25-го и 75-го перцентилей (Me [25%–75%]), минимального и максимального значений (min–max). Статистические различия исследуемых показателей определяли с помощью критерия Манна–Уитни – *U*-test (Mann–Whitney). Для анализа взаимосвязи между показателями использовали непараметрический корреляционный анализ Спирмена (Spearman). В качестве критерия статистической значимости принимался уровень значимости  $p < 0,05$ . Оценка интегральной диагностической информативности исследуемых показателей (диагностической чувствительности – ДЧ, диагностической специфичности – ДС) проведена с помощью построения характеристических ROC-кривых (Receiver Operator Characteristic) и определения площадей под кривыми (AUC – Area Under Curve).

**Результаты и их обсуждение.** Обнаружено статистически значимое повышение концентрации факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии в крови пациентов, страдающих РМП, по сравнению с таковой у здоровых лиц ( $p < 0,0001$ ). Медиана содержания VEGF в сыворотке крови пациентов с РМП была в 4 раза выше значения, наблюдаемого в контрольной группе. Максимальная концентрация сосудисто-эндотелиального фактора роста у онкологических пациентов составила 1456,8 пг/мл, в то время как в контрольной группе данный показатель не превышал 200,6 пг/мл.

Отмечены значимые различия концентрации sICAM в крови в сравниваемых группах пациентов, страдающих РМП, и в группе контроля ( $p < 0,0001$ ). Максимальное значение sICAM в группе онкологических пациентов – 810,0 нг/мл, что в 6 раз выше, чем в контрольной группе.

Диапазон концентраций sPECAM в контрольной группе составлял от 53,9 до 82,5 нг/мл, а у 70 % онкологических пациентов он превышал верхние значения данного диапазона, достигая 362,0 нг/мл.

Уровни TNF- $\alpha$  и растворимой формы его рецептора p55 в крови онкологических пациентов почти в 2 раза превышали таковые в группе здоровых лиц ( $p < 0,0001$ ).

Медианы концентраций эпидермального фактора роста и его растворимого рецептора p185 в сыворотке крови в 1,6 раза превышали соответствующие медианы в контрольной группе ( $p < 0,0001$ ).

Разброс значений содержания FGF в крови как онкологических пациентов, так и здоровых лиц был значительным и составил 16,7–666,7 пг/мл для пациентов с РМП и 20,3–113,0 пг/мл для лиц группы контроля.

Медиана сывороточной концентрации эндостатина у пациентов, страдающих РМП, в 2,1 раза превышала уровень, наблюдаемый у лиц без онкологической патологии.

Выявлена корреляционная связь сывороточных уровней VEGF ( $R = 0,69$ ;  $p = 0,003$ ), sICAM ( $R = 0,74$ ;  $p = 0,002$ ), sPECAM ( $R = 0,67$ ;  $p = 0,005$ ) со стадией опухолевого процесса. При II стадии заболевания концентрации этих показателей в 1,5 раза превышали значения, наблюдаемые у пациентов с I стадией РМП ( $p_{IvsII} < 0,001$ ). Более выраженное увеличение (в 2–3 раза) медиан концентрации вышеуказанных факторов отмечено при распространенном опухолевом процессе ( $p_{IvsIII,IV} < 0,0001$ ).

Уровень FGF в сыворотке крови пациентов, страдающих РМП, в меньшей степени коррелирует с распространенностью опухолевого процесса ( $R = 0,32$ ;  $p = 0,02$ ). Значимое повышение содержания этого фактора отмечено при II–IV стадии заболевания по сравнению с I стадией ( $p_{IvsII,III,IV} < 0,0001$ ). Медианы сывороточного содержания FGF при II–IV стадии практически не различаются между собой ( $p_{IIvsIII,IV} > 0,05$ ). Значимое ( $p < 0,05$ ) повышение концентрации TNF- $\alpha$  и растворимой формы его рецептора p55 в крови по сравнению с контрольной группой наблюдалось уже при I стадии опухолевого процесса (медианы 11,2 пг/мл и 3,7 нг/мл соответственно). С ростом стадии заболевания концентрации этих показателей повышались более чем в 1,5 раза (17,6 пг/мл и 5,7 нг/мл – II стадия; 22,7 пг/мл и 7,8 нг/мл – III стадия; 32,6 пг/мл и 11,6 нг/мл – IV стадия,  $p < 0,001$ ), что свидетельствует о наличии корреляционной взаимосвязи TNF- $\alpha$  ( $R = 0,47$ ;  $p = 0,004$ ) и p55 ( $R = 0,63$ ;  $p = 0,002$ ) с распространенностью опухолевого процесса. Содержание эпидермального фактора роста и его растворимого рецептора p185 в сыворотке крови также коррелирует со стадией рака мочевого пузыря ( $R = 0,56$ ;  $p < 0,001$ ,  $R = 0,61$ ;  $p < 0,0001$  соответственно). Что касается ингибитора ангиогенеза эндостатина, закономерностей, свидетельствующих о существенном изменении уровня этого показателя по мере распространенности опухолевого процесса, выявить не удалось ( $p > 0,05$ ).

Содержание сосудисто-эндотелиального фактора роста и молекул межклеточной адгезии sICAM, sPECAM в сыворотке крови пациентов с мышечно-инвазивным РМП повышено в 1,4–1,9 раза по сравнению с концентрациями, определяемыми у пациентов с немышечно-инвазивным РМП. Концентрации фактора некроза опухоли и его растворимого рецептора p55 повышены в 2 раза, эпидермального фактора роста и его рецептора p185 – в 1,7 раза. Сывороточные уровни ингибитора ангиогенеза эндостатина в обеих исследуемых группах практически одинаковы (табл. 1).

Таблица 1. Содержание факторов роста, ангиогенеза и межклеточной адгезии в сыворотке крови пациентов, страдающих РМП, в зависимости от распространенности опухолевого процесса

Table 1. Factors of growth, angiogenesis, and intercellular adhesion in the blood serum of patients with bladder cancer depending on the prevalence rate of the neoplastic process

Показатель	Группа сравнения	Статистический параметр			
		n	Me [25%–75%]	min–max	p Mann–Whitney
VEGF, пг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	552	282,4 [224,7–355,8]	34,8–1265,6	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	370	509,2 [401,3–742,0]	115,6–1456,8	
sICAM, нг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	550	128,0 [118,0–142,0]	15,0–456,0	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	368	250,0 [176,0–343,5]	89,0–810,0	
sPECAM, нг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	550	105,0 [97,3–115,00]	47,3–220,0	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	368	143,10 [125,0–179,8]	70,0–362,0	

Окончание табл. 1

Показатель	Группа сравнения	Статистический параметр			
		<i>n</i>	Me [25%–75%]	min–max	<i>p</i> Mann–Whitney
TNF- $\alpha$ , пг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	550	11,2 [6,7–18,9]	1,02–64,80	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	365	22,6 [12,6–31,9]	1,26–60,26	
p55, нг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	542	3,7 [2,5–5,0]	1,0–18,0	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	358	7,7 [5,2–10,0]	1,0–36,0	
EGF, нг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	537	22,6 [18,9–28,8]	5,5–200,5	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	364	36,5 [28,1–48,4]	4,5–285,0	
p185, нг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	527	5,1 [3,9–6,6]	0,5–12,5	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	353	8,8 [6,8–10,8]	2,5–22,4	
FGF, пг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	549	136,0 [118,3–182,0]	16,7–625,4	<0,0001
	Мышечно-инвазивный РМП	367	218,7 [188,0–288,0]	17,2–666,7	
Эндостатин, нг/мл	Немышечно-инвазивный РМП	552	259,0 [230,0–295,0]	50,0–500,0	0,2316
	Мышечно-инвазивный РМП	371	248,0 [200,7–329,0]	106,2–698,0	

При проведении непараметрического корреляционного анализа Спирмена выявлена умеренная и сильная корреляционная связь с распространенностью опухолевого процесса только 6 показателей: sICAM ( $R = 0,70$ ;  $p < 0,0001$ ), VEGF ( $R = 0,66$ ;  $p < 0,0001$ ), sPECAM ( $R = 0,64$ ;  $p < 0,0001$ ), p55 ( $R = 0,58$ ;  $p < 0,0001$ ), p185 ( $R = 0,56$ ;  $p < 0,0001$ ), FGF ( $R = 0,52$ ;  $p < 0,0001$ ). Анализ чувствительности и специфичности вышеперечисленных показателей проводили с учетом построения характеристических ROC-кривых и определения площади под кривой AUC. Полученные данные представлены на рис. 1.

С целью определения значимости исследуемых показателей для прогнозирования количества опухолевых очагов и степени злокачественности опухоли проведен анализ содержания данных показателей в биологических жидкостях 552 пациентов, страдающих неммышечно-инвазивным РМП. В результате установлено статистически значимое повышение сывороточных уровней факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии у пациентов с множественными опухолевыми очагами в мочевом пузыре по сравнению с таковыми у пациентов, имеющих единичный опухолевый очаг ( $p < 0,001$ ). Уровень ингибитора ангиогенеза эндостатина не зависел от количества опухолевых очагов в мочевом пузыре ( $p = 0,3098$ ).

Непараметрический корреляционный анализ Спирмена показал, что из 9 исследованных лабораторных показателей с количеством опухолевых очагов коррелируют 5: p185, ICAM, p55, FGF, TNF- $\alpha$  ( $R = 0,35–0,55$ ;  $p < 0,05$ ).

Таблица 2. Характеристики ROC-кривых лабораторных показателей

Table 2. Characteristics of the ROC curves of the laboratory indices

Показатель	Чувствительность, %	Специфичность, %	Точка отсечения, ед. изм.	AUC	<i>p</i>
p185, нг/мл	68,8	52,9	4,6	0,64 $\pm$ 0,02	<0,0001
sICAM, нг/мл	68,1	51,9	123,9	0,61 $\pm$ 0,02	<0,0001
p55, нг/мл	64,0	54,4	3,4	0,62 $\pm$ 0,02	<0,0001
FGF, пг/мл	63,9	51,5	132,0	0,60 $\pm$ 0,02	<0,0001
TNF- $\alpha$ , пг/мл	62,3	60,8	10,7	0,62 $\pm$ 0,02	<0,0001

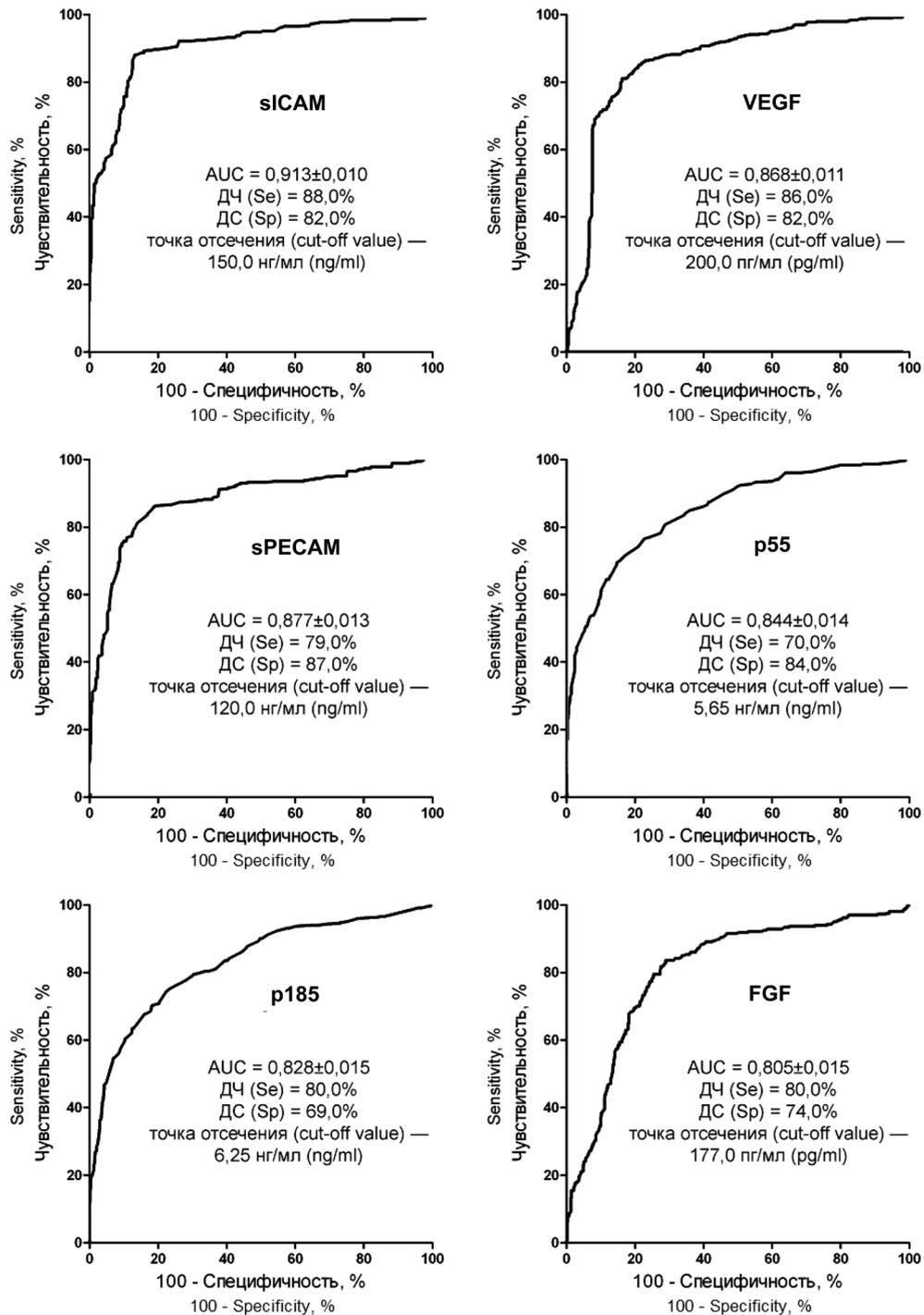


Рис. 1. ROC-кривые лабораторных показателей степени распространенности опухолевого процесса

Fig. 1. ROC curves of the laboratory indices of tumor spread

Анализ информативности вышеперечисленных показателей для определения количества опухолевых очагов проведен с учетом построения характеристических ROC-кривых и определения площади под кривой AUC (табл. 2).

Поскольку высокая степень злокачественности опухоли (G3) является важным прогностически неблагоприятным признаком у пациентов, страдающих РМП, проведена оценка значимости исследуемых показателей для определения степени злокачественности опухоли.

Выявлены статистически значимые различия сывороточных уровней факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии в зависимости от степени злокачественности опухоли ( $p < 0,0001$ ).

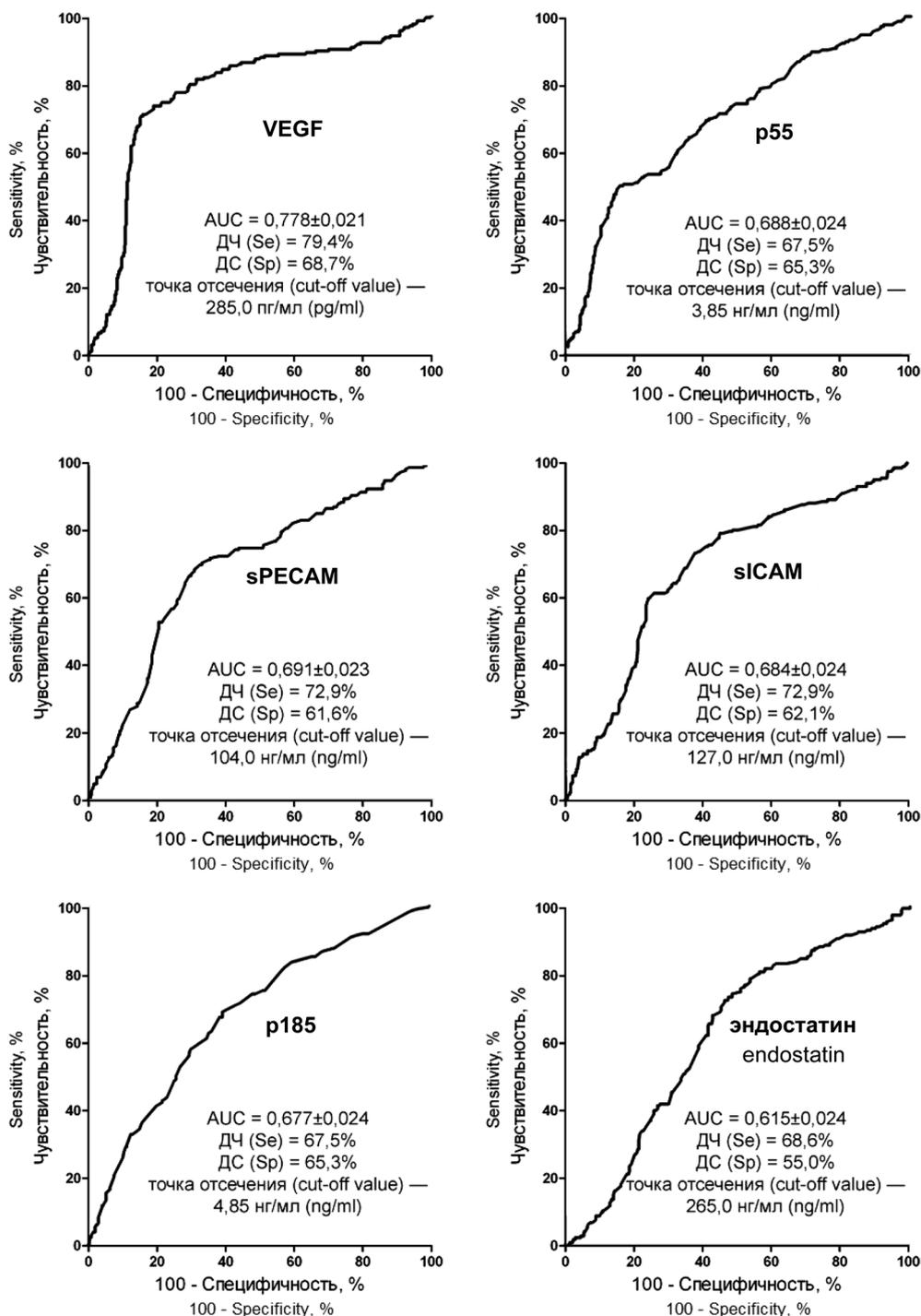


Рис. 2. ROC-кривые лабораторных показателей степени злокачественности опухоли

Fig. 2. ROC curves of the laboratory indices of tumor grade

Медиана содержания VEGF при G2–G3 на 49 % превысила медиану, полученную в группе пациентов с G1. Концентрации фактора некроза опухоли и растворимой формы его рецептора p55 в группе пациентов со средней и высокой степенью злокачественности опухоли на 30,7–45,5 % превысили таковые у лиц с низкой степенью злокачественности. Аналогичные результаты получены при анализе эпидермального фактора роста и его рецептора p185 (23,7–37,8 %). Уровень ингибитора ангиогенеза эндостатина при G2–G3 на 11,3 % ниже уровня, наблюдаемого в группе пациентов с G1.

При проведении непараметрического корреляционного анализа Спирмена выявлено, что со степенью злокачественности опухоли коррелируют следующие показатели: VEGF ( $R = 0,56; p < 0,0001$ ),

p55 ( $R = 0,52$ ;  $p < 0,0001$ ), sPECAM ( $R = 0,38$ ;  $p < 0,0001$ ), sICAM ( $R=0,34$   $p < 0,0001$ ), p185 ( $R = 0,33$ ;  $p < 0,0001$ ), эндостатин ( $R = -0,31$ ;  $p < 0,0001$ ).

Анализ чувствительности и специфичности вышеперечисленных показателей проводили с учетом построения характеристических ROC-кривых и определения площади под кривой AUC. Полученные данные представлены на рис. 2.

**Заключение.** В результате проведенных исследований установлено, что в биологических жидкостях пациентов, страдающих РМП, содержание факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии и растворимых форм их рецепторов значимо выше, чем у клинически здоровых лиц. Уровень всех исследованных показателей (кроме эндостатина) значимо возрастает по мере увеличения стадии заболевания. Факторы межклеточной адгезии sICAM, sPECAM, факторы роста VEGF и FGF, растворимые формы рецепторов p55 и p185 являются информативными для дооперационного определения степени инвазии РМП (диагностическая чувствительность – 70,0–88,0 %, диагностическая специфичность – 69,0–87,0 %). Для определения количества опухолевых очагов у пациентов, страдающих немышечно-инвазивным РМП, целесообразно использовать sICAM, FGF, TNF- $\alpha$ , p55, p185, а для прогнозирования степени злокачественности — VEGF, sICAM, sPECAM, p55, p185, эндостатин.

### Список использованных источников

1. Folkman, J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications / J. Folkman // *N. Engl. J. Med.* – 1971. – Vol. 285. – P. 1182–1186.
2. Kerbel, R. S. Tumor angiogenesis / R. S. Kerbel // *N. Engl. J. Med.* – 2008. – Vol. 358. – P. 2039–2049.
3. Fus, L. P. Role of angiogenesis in urothelial bladder carcinoma / L. P. Fus, B. Górnicka // *Cent. Eur. J. Urol.* – 2016. – Vol. 69, N 3. – P. 258–263.
4. Роль VEGF в развитии неопластического ангиогенеза / В. П. Чехонин [и др.] // *Вестн. Рос. акад. мед. наук.* – 2012. – № 2. – С. 23–33.
5. Повещенко, А. Ф. Механизмы и факторы ангиогенеза / А. Ф. Повещенко, В. И. Коненков // *Успехи физиол. наук.* – 2010. – Т. 41, № 2. – С. 68–89.
6. Roles for growth factors in cancer progression / E. Witsch [et al.] // *Physiology (Bethesda)*. – 2010. – Vol. 25. – P. 85–101.
7. VEGF-C as a decision-making biomarker for selected patients with invasive bladder cancer who underwent bladder-preserving radical surgery / Z. Li [et al.] // *Arch. Med. Res.* – 2011. – Vol. 42, N 5. – P. 405–411.
8. Correlation of tumor relapse and elevated expression of survivin and vascular endothelial growth factor in superficial bladder transitional cell carcinoma / Y. W. Sun [et al.] // *Genet. Mol. Res.* – 2013. – Vol. 12, N 2. – P. 1045–1053.
9. Диагностическое значение исследования фактора роста эндотелия сосудов в сыворотке крови / Н. Б. Захарова [и др.] // *Фундам. исслед.* – 2011. – № 11. – С. 215–220.
10. Фактор роста эндотелия сосудов в диагностике метастазов мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря / В. М. Попков [и др.] // *Онкоурология.* – 2016. – Т. 12, № 2. – С. 53–57.
11. Expression of VEGF and its receptors VEGFR1/VEGFR2 is associated with invasiveness of bladder cancer / P. K. Korparapu [et al.] // *Anticancer Res.* – 2013. – Vol. 33, N 6. – P. 2381–2390.
12. Кушлинский, Н. Е. Биологические маркеры опухолей в клинике: достижения, проблемы, перспективы / Н. Е. Кушлинский, Е. С. Герштейн // *Молекуляр. медицина.* – 2008. – № 3. – С. 48–55.
13. Регуляция ангиогенеза при злокачественных новообразованиях почки и мочевого пузыря / Л. В. Спирина [и др.] // *Сибир. онкол. журн.* – 2008. – № 4. – С. 65–69.
14. Epidermal growth factor induces bladder cancer cell proliferation through activation of the androgen receptor / K. Izumi [et al.] // *Int. J. Oncol.* – 2012. – Vol. 41, N 5. – P. 1587–1592.
15. Human epidermal growth factor receptor 2 expression status provides independent prognostic information in patients with urothelial carcinoma of the urinary bladder / C. Bolenz [et al.] // *BJU Int.* – 2010. – Vol. 106, N 8. – P. 1216–1222.
16. Hynes, N. E. ErbB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors / N. E. Hynes, H. A. Lane // *Nat. Rev. Cancer.* – 2005. – Vol. 5. – P. 341.
17. Role of ErbB receptors in cancer cell migration and invasion / A. Appert-Collin [et al.] // *Front. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 106, N 6. – P. 283.
18. Молекулярно-биологические маркеры поверхностного и инвазивного рака мочевого пузыря / Н. Н. Проданец [и др.] // *Совр. технологии в медицине.* – 2009. – № 2. – С. 87–91.
19. PECAM-1 and tumor metastasis / H. M. DeLisser [et al.] // *FASEB J.* – 2007. – Vol. 21. – P. 78.
20. Vascular endothelial cell adhesion molecule 1 (PECAM-1) regulates advanced metastatic progression / H. DeLisser [et al.] // *PNAS.* – 2010. – Vol. 107. – P. 18616–18621.
21. Mocellin, S. TNF and cancer: the two sides of the coin / S. Mocellin, D. Nitti // *Front Biosci.* – 2008. – Vol. 13. – P. 2774–2783.
22. Wajant, H. The role of TNF in cancer / H. Wajant // *Results Probl. Cell Differ.* – 2009. – Vol. 49. – P. 1–15.

23. Waterston, A. TNF and cancer: good or bad? / A. Waterston, M. Bower // *Cancer Ther.* – 2004. – Vol. 2. – P. 131–148.
24. Эндостатин: современные представления о его роли и механизмах действия (обзор) / А. В. Дигтьяр [и др.] // *Биохимия.* – 2007. – Т. 72, № 3. – С. 291–306.
25. Clinical value of vascular endothelial growth factor and endostatin in urine for diagnosis of bladder cancer / D. Cheng [et al.] // *Tumori.* – 2012. – Vol. 98, N 6. – P. 762–767.

## References

1. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *The New England Journal of Medicine*, 1971, vol. 285, pp. 1182–1186.
2. Kerbel R. S. Tumor angiogenesis. *The New England Journal of Medicine*, 2008, vol. 358, pp. 2039–2049.
3. Fus L. P., Górnicka B. Role of angiogenesis in urothelial bladder carcinoma. *Central European Journal of Urology*, 2016, vol. 69, no. 3, pp. 258–263.
4. Chekhonin V. P., Shein S. A., Korchagina A. A., Gurina O. I. The VEGF role in the development of neoplastic angiogenesis. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences]*, 2012, no. 2, pp. 23–33 (in Russian). doi:10.15690/vramn.v67i2.119.
5. Poveshchenko A. F., Konenkov V. I. Mechanisms and factors of angiogenesis. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk [The Successes of Physiological Sciences]*, 2010, vol. 41, no. 2, pp. 68–89. (in Russian).
6. Witsch E., Sela M., Yarden Y. Roles for growth factors in cancer progression. *Physiology (Bethesda)*, 2010, vol. 25, pp. 85–101.
7. Li Z., Qi F., Qi L., Zhang H., Chen M., Wang L., Zu X. VEGF-C as a decision-making biomarker for selected patients with invasive bladder cancer who underwent bladder-preserving radical surgery. *Archives of Medical Research*, 2011, vol. 42, no. 5, pp. 405–411.
8. Sun Y. W., Xuan Q., Shu Q. A., Wu S. S., Chen H., Xiao J., Xiang P., Zhu Y. P., Wang F. L., Zhao S. T. Correlation of tumor relapse and elevated expression of survivin and vascular endothelial growth factor in superficial bladder transitional cell carcinoma. *Genetics and Molecular Research*, 2013, vol. 12, no. 2, pp. 1045–1053.
9. Zaharova N. B., Durnov D. A., Mikhailov V. Ju., Ponukalin A. N., Nikitina V. V., Zankina O. V., Leonova M. L. Diagnostic value of study of vascular endothelium growth factor in the blood serum. *Fundamental'nye issledovaniia [Fundamental Research]*, 2011, no. 11, pp. 215–220. (in Russian).
10. Popkov V. M., Ponukalin A. N., Zakharova N. B. Vascular endothelial growth factor in diagnostics of metastases of a muscle invasive bladder cancer. *Onkourologiia [Oncourology]*, 2016, vol. 12, no. 1, pp. 53–57. (in Russian).
11. Kopparapu P. K., Boorjian S. A., Robinson B. D., Downes M., Gudas L. J., Mongan N. P., Persson J. L. Expression of VEGF and its receptors VEGFR1/VEGFR2 is associated with invasiveness of bladder cancer. *Anticancer Research*, 2013, vol. 33, no. 6, pp. 2381–2390.
12. Kushlinskij N. E., Gershtejn E. S. Tumor biomarkers of tumors in clinic: achievements, problems, perspectives. *Molekuljarnaja medicina [Molecular Medicine]*, 2008, no. 3, pp. 48–55. (in Russian).
13. Spirina L. V., Kondakova I. V., Usynin E. A., Vintizenko S. I. Angiogenesis regulation in malignant neoplasms of kidney and bladder. *Sibirskij onkologicheskij zhurnal [Siberian Cancer Journal]*, 2008, no. 4, pp. 65–69. (in Russian).
14. Izumi K., Zheng Y., Li Y., Zaengle J., Miyamoto, H. Epidermal growth factor induces bladder cancer cell proliferation through activation of the androgen receptor. *International Journal of Oncology*, 2012, vol. 41, no. 5, pp. 1587–1592.
15. Bolenz C., Shariat S. F., Karakiewicz P. I., Ashfaq R., Ho R., Sagalowsky A. I., Lotan Y. Human epidermal growth factor receptor 2 expression status provides independent prognostic information in patients with urothelial carcinoma of the urinary bladder. *BJU International*, 2010, vol. 106, no. 8, pp. 1216–1222.
16. Hynes N. E., Lane H. A. ErbB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors. *Nature Reviews Cancer*, 2005, vol. 5, p. 341.
17. Appert-Collin A., Hubert P., Crémel G., Bennisroune A. Role of ErbB receptors in cancer cell migration and invasion. *Frontiers in Pharmacology*, 2015, vol. 106, p. 283.
18. Prodanec N. N., Snopova L. B., Bunegina L. V. Molecular-biological markets of surface and invasive bladder cancer. *Sovremennye tehnologii v medicine [Modern Technologies in Medicine]*, 2009, no. 2, pp. 87–91. (in Russian).
19. DeLisser H. M., Cao G., Fehrenbach M., Desprez P., Liu Y., Liggitt D., Thor A., Debs R. PECAM-1 and tumor metastasis, *The FASEB Journal*, 2007, vol. 21, p. 78.
20. DeLisser H. M., Liu Y., Desprez P. Y., Thor A., Briasouli P., Handumrongkul C., Wilfong J., Yount G., Nosrati M., Fong S., Shtivelman E., Fehrenbach M., Cao G., Moore D. H., Nayak S., Liggitt D., Kashani-Sabet M., Debs R. Vascular endothelial platelet endothelial cell adhesion molecule 1 (PECAM-1) regulates advanced metastatic progression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, vol. 107, pp. 18616–18621. doi: 10.1073/pnas.1004654107.
21. Mocellin S., Nitti D. TNF and cancer: the two sides of the coin. *Frontiers in Bioscience: a Journal and Virtual Library*, 2008, vol. 13, pp. 2774–2783.
22. Wajant, H. The role of TNF in cancer. *Results and Problems in Cell Differentiation*, 2009, vol. 49, pp. 1–15.
23. Waterston A., Bower M. TNF and cancer: good or bad? *Cancer Therapy*, 2004, vol. 2, pp. 131–148.
24. Digtjar' A. V., Pozdnjakova N. V., Fel'dman N. B., Lucenko S. V., Severin S. E. Endostatin: current concepts about its biological role and mechanisms of action. *Biokhimiya [Biochemistry]*, 2007, vol. 72, no. 3, pp. 291–306. (in Russian).
25. Cheng D., Liang B., Li Y. Clinical value of vascular endothelial growth factor and endostatin in urine for diagnosis of bladder cancer. *Tumori*, 2012, vol. 98, no. 6, pp. 762–767.

### **Информация об авторе**

*Державец Лилия Александровна* – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: ldzerzhavets@mail.ru.

### **Для цитирования**

Державец, Л. А. Факторы роста, ангиогенеза и межклеточной адгезии для оценки степени распространенности рака мочевого пузыря / Л. А. Державец // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 2. – С. 78–88.

### **Information about the author**

*Derzhavets Liliya Aleksandrovna* – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. N. N. Alexandrov National Cancer Center (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: ldzerzhavets@mail.ru.

### **For citation**

Derzhavets L. A. Factors of growth, angiogenesis and intercellular adhesion for evaluation of bladder cancer spread. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2017, no. 2, pp. 78–88.

**Э. А. Повелица<sup>1</sup>, Н. С. Сердюченко<sup>2</sup>, Н. И. Доста<sup>3</sup>, Е. Н. Ващенко<sup>1</sup>, А. Б. Малков<sup>1</sup>,  
О. В. Пархоменко<sup>1</sup>, В. А. Доманцевич<sup>1</sup>, Д. М. Ниткин<sup>3</sup>, А. М. Шестерня<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека,  
Гомель, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

<sup>3</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

### **ЭРЕКТИЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ У ПАЦИЕНТОВ С АВТОНОМНОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИЕЙ**

Диагностированы эректильные нарушения у мужчин с сахарным диабетом (СД) в сочетании с урогенитальной автономной диабетической нейропатией, а также определена тактика медицинской реабилитации этих пациентов.

Обследовано 30 пациентов с СД первого ( $n = 15$ ) и второго ( $n = 15$ ) типа, у которых отмечалась ЭД преимущественно тяжелой степени (МИЭФ-5 от 6 до 16 баллов). По результатам проведенного обследования пациентам был назначен курс консервативной терапии, включавший ингибиторы фосфодиэстеразы V типа, антихолинэстеразные препараты, препараты тиоктовой кислоты. Консервативная терапия сочеталась с ударно-волновой терапией на область полового члена. Группа сравнения состояла из 15 здоровых молодых мужчин без признаков ЭД (МИЭФ-5 21–22 балла). Для определения полового гормонального статуса использовали иммуноферментный анализ, для проведения ангиографического исследования сосудов бассейна внутренней половой артерии (ВПА) – ультразвуковой, доплерографический, а также лучевой методы. Проведено электронейромиографическое исследование нервов полового члена.

Согласно результатам исследования, в 100 % случаев у пациентов с СД диагностированы кавернозный фиброз, явления ангиосклероза сосудов полового члена (ПЧ) и ВПА, а также явления аксонопатии моторных и сенсорных волокон нервов ПЧ; в 42,9 % случаев – стенозо-окклюзионные изменения в ВПА, обуславливающие нарушение и недостаточность артериальной перфузии в бассейне ВПА.

Таким образом, денервационные изменения сенсорных и моторных волокон нервов ПЧ и гемодинамически значимые перфузионные нарушения в бассейне ВПА у пациентов СД являлись ведущими патогенетическим факторами ЭД. Кроме того, у таких пациентов отмечалось снижение реакции ВПА на фармакологическую стимуляцию, причиной которой являются ангиосклероз и утрата эластичности стенки артерии. Отмечалась неэффективность консервативной терапии у пациентов с СД и ЭД тяжелой степени.

*Ключевые слова:* сахарный диабет, нейропатия, эректильная дисфункция, ультразвуковое исследование, электронейромиография, ангиография.

**E. Povelitsa<sup>1</sup>, N. Serdjuchenko<sup>2</sup>, N. Dosta<sup>3</sup>, E. Vaschenko<sup>1</sup>, A. Malkov<sup>1</sup>, O. Parhomenko<sup>1</sup>,  
V. Domantsevich<sup>1</sup>, D. Nitkin<sup>3</sup>, A. Shesternya<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk

### **ERECTILE DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH AUTONOMIC DIABETIC NEUROPATHY**

Erectile disorders in men with diabetes mellitus (DM) in combination with autonomic neuropathy are diagnosed and rehabilitation methods of patients with erectile dysfunction (ED) are detected.

Thirty patients with DM were examined (15 patients with diabetes mellitus type 1 and 15 patients with diabetes mellitus type 2 respectively). Patients with DM had ED mainly of severe form (IIEF-5 from 6 to 16 points). According to the examination results, the patients were assigned conservative therapy, including phosphodiesterase inhibitors of type V, anticholinesterase drugs, thioctic acid drugs. Conservative therapy was combined with shock wave therapy in the area of the penis. The comparison group consisted of 15 healthy men (volunteers) without ED signs (IIEF-5 21–22 points). The immune-enzyme analysis was used for detection of sex hormone status. Ultrasound, dopplergraphic and X-ray methods were used for conduction of angiography of pool vessels of internal pudendal artery (IPA). Electroneuromyography of penis nerves was made.

According to the obtained results, patients with DM were diagnosed with cavernous fibrosis, angi sclerosis of IPA and penis vessels in 100% of cases. Axonopathy of motor and sensory penis nerves was detected in 100 % of cases; stenosis and occlusion changes in IPA were detected in 42.9 % of cases causing disorder and insufficiency in arterial perfusion in the IPA pool.

Denervation changes in sensory and motor penis nerves and hemodynamically significant perfusion disorders in the IPA pool were the principal pathogenetic ED factors in patients with DM. A decrease of the IPA reaction to the pharmacological stimulation was noted in patients with DM, which was caused by angiosclerosis and arterial wall elasticity loss. The inefficiency of conservative therapy in patients with DM and severe ED was revealed.

*Keywords:* diabetes mellitus, neuropathy, erectile dysfunction, ultrasound, electroneuromyography, angiography.

**Введение.** По данным International Diabetes Federation (IDF), количество пациентов с сахарным диабетом (СД) с каждым годом постоянно увеличивается (в 2014 г. в мире был зарегистрирован 371 млн человек с СД) [1].

Одним из серьезных и грозных осложнений СД является диабетическая нейропатия (ДН). По литературным данным, частота встречаемости ДН у пациентов с СД составляет порядка 70–100 %, при этом к моменту постановки диагноза у 25 % пациентов с СД второго типа уже имеются клинические проявления ДН. Частота развития ДН при СД напрямую зависит от длительности заболевания и возраста пациентов. К факторам риска развития ДН относят степень компенсации углеводного обмена, а также пол пациента (у мужчин чаще, чем у женщин, развивается ДН при СД) [2–4].

Особое место среди ДН занимает автономная ДН, связанная с поражением автономной нервной системы – симпатической и парасимпатической. Важную роль среди различных форм автономной ДН (АДН) играет урогенитальная форма нейропатии.

Основными клиническими формами урогенитальной формы АДН являются эректильная дисфункция (ЭД), ретроградная эякуляция, нейрогенный мочевого пузыря [5–8].

Считается, что у 50 % пациентов с СД сначала развивается соматическая нейропатия, а затем у 75–100 % из них – нейрогенная дисфункция нижних мочевыводящих путей. Данные Европейской ассоциации урологов свидетельствуют о том, что у 43–87 % пациентов с СД первого типа, независимо от возраста и пола, развивается так называемая диабетическая цистопатия [8, 9].

Результаты проведенного в 1994 г. многолетнего Массачусетского исследования по изучению вопросов старения мужчин показали, что СД является одним из основных факторов риска развития ЭД, которая встречается у 50–60 % мужчин, страдающих СД в первые 10 лет заболевания. Установлено, что у пациентов с СД длительность заболевания коррелирует с тяжестью ЭД по шкале МИЭФ. При стаже СД до 5 лет тяжелые формы ЭД встречались у 30,8 % мужчин, а при стаже более 20 лет – у 72,2 % [10–13].

Результаты исследований С. G. Vason и соавт. [14] также свидетельствуют о том, что у мужчин с СД первого и второго типа риск развития ЭД был статистически значимо более высокий, чем у мужчин без диабета.

По данным ФГБУ «Эндокринологический научный центр» (Москва, Россия), при обследовании пациентов, обратившихся по поводу ЭД как единственного заболевания, более чем в 10 % случаев в последующем впервые выявлялся СД [15].

ЭД является типичным осложнением СД, а в комплексе с другими диабетическими осложнениями (микро- и макроангиопатией, полинейропатией, ретинопатией) приводит к значительному снижению качества жизни пациентов. Важно отметить, что у пациентов с СД и ЭД другие осложнения СД прогрессируют значительно быстрее, чем у пациентов с СД, но без ЭД [16].

Урогенитальная АДН зачастую сочетается с другими автономными нейропатическими проявлениями СД и в первую очередь с кардиоваскулярными [17].

У пациентов с СД ЭД встречается в 3,3 раза чаще, чем у мужчин без хронической гипергликемии. По данным ФГБУ «Эндокринологический научный центр» (Москва, Россия), распространенность ЭД у мужчин в возрасте от 18 до 30 лет при СД первого типа встречалась в 9,6 % случаев, а при СД второго типа – в 0 %; в возрасте от 31 до 50 лет – в 50,9 и 43,3 % случаев; в возрасте старше 50 лет – в 90,5 и 72,5 % соответственно [18].

В структуре причин ЭД на долю пациентов с СД приходится более 40 % случаев, т. е. практически каждый второй пациент с нарушением половой функции страдает СД [19].

Афферентным звеном рефлекторной дуги возникновения эрекции является половой нерв (*n. pudendus*). Он аккумулирует и передает нервные импульсы от головки полового члена (ПЧ), кожи и кавернозных тел. Эти нервные импульсы поступают в парасимпатические центры S2-S4 спинного мозга, из которых затем через эфферентные нервные волокна формируются сакральное

сплетение и парасимпатические эректильные нервы (*n. erigentes*), проходящие по заднебоковой поверхности предстательной железы (ПЖ), мембранозной части уретры и проникающие в кавернозные тела ПЧ. Парасимпатические эректильные нервы выполняют важную функцию. Они участвуют в иннервации гладкой мускулатуры кавернозной ткани и, в частности, улитковых артерий, способствуя расширению гладкой мускулатуры последних и активному кровенаполнению кавернозных тел ПЧ. Необходимо отметить, что половой нерв, несмотря на то что он является соматическим, имеет общий центр в спинном мозге с парасимпатическими эректильными нервами и общие пути пересечения в сакральном нервном сплетении [20].

Нарушение парасимпатического компонента автономной нервной системы, как правило, влияет на нарушение эрекции, в то время как нарушение симпатической иннервации приводит к развитию ретроградной эякуляции. Отмечено, что ЭД при СД значительно раньше развивается у мужчин среднего возраста [21].

Ведущим патогенетическим фактором ДН считается хроническая гипергликемия, приводящая к изменению структуры и функции нервных клеток. Кроме того, большое значение имеют микроангиопатия (повреждение *vasa nervorum* с нарушением кровоснабжения нервных волокон) и дисметаболические изменения. К последним относятся нарушения обмена фруктозы, синтеза компонентов мембран нервных клеток с последующим изменением проведения нервных импульсов, неферментативное и ферментативное гликирование структурных белков нервного волокна (миелина, тубулина), нарастание окислительного стресса, аутоиммунные процессы. В свою очередь избыточный синтез свободных радикалов снижает NO-индуцированную релаксацию гладких мышечных волокон и совместно с конечными продуктами гликирования приводит к развитию микрососудистых осложнений, усугубляющих ДН [22].

Получены данные, свидетельствующие о взаимосвязи ЭД и клинико-лабораторного течения СД. Так, уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) у пациентов с ЭД и СД был статистически значимо выше, чем у пациентов без СД. Данный факт говорит о том, что чем хуже степень компенсации СД, тем чаще и быстрее у пациентов с СД развивается ЭД и тем тяжелее степень ее проявления по шкале МИЭФ-5 [23, 37].

При СД первого типа в структуре причин нейрогенная ЭД составляет 91,7 %, а при СД второго типа – 76,3 % [18].

У пациентов с СД наряду с нейрогенным существуют и другие причинные факторы развития ЭД, что свидетельствует о многофакторности развития данного осложнения. Речь идет об эндокринном факторе, связанном с андрогенным дефицитом, и о васкулогенных нарушениях в виде микро-макроангиопатии с нарушением перфузии в бассейне ВПА и артериях ПЧ [4, 24, 25].

Хроническая артериальная недостаточность полового члена при СД встречается у 50 % мужчин [26].

По данным Р. В. Роживанова и соавт. [18, 27], вклад васкулопатий в развитие ЭД при СД первого типа составляет 19,6 %, а при СД второго типа он более чем в 2 раза больше – 47,3 %.

В то же время нейрогенные причины развития ЭД у 611 обследованных составляли 38,7 % при СД первого типа и 66,2 % при СД второго типа [34].

Уровень андрогенов в плазме крови имеет важную роль в возникновении эрекции. Установлено, что фермент, ответственный за синтез оксида азота (NO-синтетаза), является андрогензависимым. Помимо того, обнаружены рецепторы к андрогенам в нервных клетках тазовых парасимпатических ганглиев, в которых происходит синтез NO и вазоактивного интестинального пептида, а также стимуляция синтеза NO в ганглиях под влиянием андрогенов. Гипогонадизм является частым проявлением у пациентов с СД [7, 28].

Причины снижения уровня тестостерона у мужчин с СД различны. К ним относят избыточную массу тела, или ожирение, а также возрастное снижение секреции тестостерона [29].

В настоящее время существует большое количество способов диагностики васкулогенной и эндокринной ЭД, но не внедрены эффективные методы диагностики урогенитальной формы ДАН, которые позволили бы четко и однозначно определиться с тактикой медицинской реабилитации [30, 31].

Важно отметить деликатность обсуждения с мужчиной проблемы ЭД с медицинской точки зрения, поскольку затрагиваются серьезные личностные и интимные вопросы. Несмотря на ре-

гулярное наблюдение и лечение таких пациентов, только 30–35 % из них обсуждали проблему ЭД со своим врачом. Также имеет место недостаточно активный опрос пациентов и со стороны врачей, несмотря на то что данные расстройства являются широко распространенными среди пациентов с СД и на начальных этапах успешно лечатся консервативными методами [25, 32].

Лекарственная терапия с использованием препаратов фосфодиэстеразы V-типа (ФДЭ-5) при легких формах ЭД при СД имеет определенный успех, но при одном обязательном условии – компенсации углеводного обмена [25, 33, 34].

Однако общепризнано, что консервативная терапия тяжелой нейрогенной и смешанной сосудисто-нейрогенной формы ЭД у пациентов с СД малоэффективна и единственным способом ее коррекции является эндопротезирование кавернозных тел ПЧ [26].

Поскольку этиология ЭД при СД является многофакторной (гипогонадизм, нейропатия, сосудистые нарушения, декомпенсация диабета, психогенные факторы, влияние препаратов, используемых для лечения осложнений диабета), точная диагностика ЭД позволит выработать верную стратегию проводимой терапии и улучшить качество жизни пациентов с СД.

В совокупности указанные патогенетические причины ЭД при урогенитальной форме АДН затрудняют своевременную диагностику ЭД у пациентов с СД. В связи с этим врачу-androурологу приходится сталкиваться в своей практике с уже тяжелыми формами эректильных нарушений у мужчин с СД, когда консервативная терапия малоэффективна, а выбор способа медицинской сексуальной реабилитации требует проведения достаточно широкого перечня обследований для принятия правильного решения.

На сегодняшний день единственным объективным способом оценки денервационных нарушений ПЧ является электронейромиография (ЭНМГ). Накожная ЭНМГ позволяет регистрировать суммарную электрическую проводимость нервных структур, участвующих в обеспечении эрекции, несмотря на то что при этом оцениваются лишь денервационные нарушения в половом нерве, который является по своей природе соматическим [7, 15, 21, 29, 35].

Перфузионные гемодинамические нарушения в бассейне ВПА у пациентов с СД и ЭД могут быть оценены только при трансперинеальном ультразвуковом исследовании (УЗИ), включая обследование артерий ПЧ, а также при ангиографическом исследовании внутренних подвздошных артерий.

Цель исследования – диагностика эректильных нарушений у мужчин с диабетической автономной нейропатией и определение тактики медицинской реабилитации пациентов с эректильной дисфункцией на фоне сахарного диабета.

**Материалы и методы исследования.** Группа исследования состояла из 30 пациентов с длительным стажем СД первого ( $n = 15$ ) и второго ( $n = 15$ ) типа и с ЭД преимущественно тяжелой степени (МИЭФ-5 от 6 до 16 баллов). Средний возраст пациентов составлял  $54,4 \pm 13,7$  года. Из сопутствующей патологии у пациентов с СД в 1 случае наряду с ЭД диагностирована эректильная деформация ПЧ с углом девиации до 20 градусов в латеральном направлении, в 10 случаях – доброкачественная гиперплазия предстательной железы без выраженных симптомов нижних мочевых путей (IPSS до 5 баллов), в 1 случае – ретроградная эякуляция, в 1 случае – гидронефротическая трансформация левой почки с тазовой эктопией, в 1 случае – мочекаменная болезнь (камень правой почки) без признаков обструкции верхних мочевых путей, у 15 пациентов имел место мультифокальный атеросклероз с поражением аорто-подвздошно-бедренных сегментов с различной степенью выраженности гемодинамических нарушений. По результатам проведенного обследования пациентам был рекомендован курс консервативной терапии, включавший ингибиторы ФДЭ-5 (Сиалис, Эли-Лилли, Франция) в дозе 20 мг, антихолинэстеразные препараты (Нейромидин, «Олайнфарм», Латвия) в максимальной суточной дозе 40 мг, а также был рекомендован курс инфузионной внутривенной терапии с тиоктовой кислотой. У 4 пациентов консервативная терапия сочеталась с ударно-волновой терапией (до 18 тыс. ударов на курс) на область ПЧ (Endopuls 811, Enraf Nonius, Нидерланды). Через 3 мес. проведена оценка качества половой функции.

Группа сравнения состояла из 15 здоровых молодых добровольцев в возрасте  $23,6 \pm 3,4$  года без признаков ЭД (по шкале МИЭФ-5 21–22 балла), в том числе 10 молодых мужчин негроидной расы.

Алгоритм обследования пациентов с СД в обязательном порядке включал определение уровня простатспецифического антигена (ПСА), уровня общего тестостерона крови, проведение транс-

ректального УЗИ ПЖ, а также выполнение УЗИ ПЧ в серошкальном режиме и режиме цветного доплеровского картирования. Всем пациентам в обязательном порядке производилась фармакодоплерография ПЧ в состоянии де- и тумесценции с использованием простагландина E1 (Алпростан, «Зентива», Вазапростан, «Шварц Фарма») 7,5 мг. Трансперинеальным доступом у здоровых добровольцев и пациентов с ЭД выполняли УЗИ ВПА с двух сторон с оценкой перфузионных гемодинамических и морфометрических показателей. Для проведения исследований использовали аппараты VOLUSON 730 фирмы GE, ACCUVIX-V10 фирмы Samsung Medison с линейным датчиком 8–12 МГц, с помощью которых оценивали кровоток в ПЧ, определяя пиковую систолическую скорость кровотока (ПССК) в тыльных и глубоких артериях, а также в глубокой тыльной вене. Оценивали показатели ПССК после фармагрузки.

Содержание половых и гипофизарных гормонов (эстрадиола, общего тестостерона, прогестерона, пролактина, фолликулостимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего (ЛГ) гормонов) в сыворотке крови, а также уровни общего и свободного ПСА оценивали с помощью иммуноферментного анализа. Для определения уровня гликированного гемоглобина в сыворотке крови (HbA1c) использовали аппараты Cobas 6000, Architect i 2000 фирм Abbot (Ирландия) и Roche (ФРГ) и стандартные наборы реактивов. Все исследования проведены в 2016 г. на базе Республиканского научно-практического центра радиационной медицины и экологии человека (Гомель, Республика Беларусь).

Для определения диагностической ценности и правдоподобия трансперинеального исследования ВПА полученные результаты сопоставляли с результатами магнитно-резонансной (МРТ) или динамической компьютерной контрастной (ДККА) ангиографии подвздошных артерий. Выполнено 30 МРТ ангиографий ВПА (из них 15 здоровым мужчинам) с анализом 60 половин таза и 15 ДККА с анализом 30 половин таза в режимах volume rendering и 3D mip.

При проведении исследований использовали 64-срезовый двухэнергетический компьютерный томограф Discovery 750 производства фирмы GE (General Electric, США), работающий в программе pelvis, толщина среза и промежутки между срезами составляли 0,625 мм. Для контрастирования сосудов использовали препарат «Омнипак» (General Electric Healthcare, Ирландия) с содержанием йода 300 мг/мл, который вводили с помощью инъектора ULRICH (Ulrich Medical, США) в запрограммированном режиме.

МРТ-ангиографию выполняли на аппарате General Electric, используя 32-канальную синхронизированную приемную катушку в режимах T1 и T2 (толщина срезов составляла 1,2–2,4 мм (межсрезовое пространство – 0,6 и 1,2 соответственно, с 50 %-ным перекрытием), размер пикселя – 0,9–1,2 мм). При построении 3D реконструкции (volume rendering и 3D mip) получали полноценные изображения в любой плоскости с минимальными (благодаря практически изотропному вокселю) искажениями. Оценивали визуализацию и проходимость ВПА с двух сторон при сравнении обеих тазовых половин, включая экстратазовый отдел до уровня деления на тыльные и глубокие артерии ПЧ, а также наличие или отсутствие во ВПА стенозо-окклюзионных поражений, вычисляли процент стеноза и его протяженность. Полученные доплерографические параметры артериального кровотока ПЧ сопоставляли с результатами ДКК- и МРТ-ангиографии ПЧ.

Всем пациентам с ЭД нами выполнялась аппликационная кожная ЭНМГ ПЧ. Исследование проводили на аппарате Нейро-МВП-8 («Нейрософт», Россия). Методика проведения ЭНМГ включала три этапа: на первом этапе выполняли поверхностную миограмму в реальном режиме времени (1 мм/с) и с амплитудой от 0 до 600 мкВ, на следующем этапе – стимуляционную миографию *m. bulbospongiosus* (*n. pudendus*, *n. dorsalis penis*), через S3–S4 сегменты крестцового отдела спинного мозга), на заключительном этапе – диагностику сенсорной порции тыльного нерва ПЧ (*n. dorsalis penis*). Результаты ЭНМГ-исследования оценивали по следующему критерию: поверхностная миограмма-изолиния в течении 30 мин (за исключением артефактов) свидетельствовала о патологии автономной иннервации ПЧ у пациентов с ЭД.

Стимуляционную миографию *m. bulbospongiosus* (*n. pudendus*, *n. dorsalis penis*) оценивали по М-ответу. Если таковой отсутствовал, это свидетельствовало о полном поражении указанных нервных стволов. Нарушение М-ответа при стимуляционной миографии возникало вследствие нейропатического поражения данных нервов. Если амплитуда М-ответа была меньше 0,1 мВ, это расценивали как аксонопатию. Если амплитуда М-ответа была выше 0,1 мВ, это считалось нормой.

Необходимым условием являлось обязательное двустороннее проведение стимуляционной диагностики *m. bulbospongiosus* (*n. pudendus*, *n. dorsalis penis*).

Диагностику сенсорных порций *n. dorsalis penis* оценивали по следующим критериям. Если амплитуда сенсорного ответа была ниже 5 мкВ, это расценивали как выраженную аксонопатию. Если амплитуда сенсорного ответа составляла от 5 до 10 мкВ, это считали умеренной аксонопатией. Амплитуда сенсорного ответа свыше 10 мкВ принималась за норму. Необходимым условием проведения исследования была обязательная двухсторонняя диагностика сенсорных порций указанных нервов. Кроме того, оценивали (в миллисекундах) время проведения электрического импульса по нервным структурам до достижения максимальной амплитуды по критерию латентности.

Для оценки качества сексуального здоровья использовали шкалу МИЭФ-5 и шкалу оценки скорости и степени эрекции Юнема.

Статистический анализ проведен с использованием пакета статистических программ Statistica 6.0. Использовались непараметрические и параметрические методы статистической обработки полученных результатов. Рассчитывали средние величины (M), стандартное отклонение среднего значения ( $\pm$ SD), медиану (Me) и интерквартильный размах ( $Q^{25}$ – $Q^{75}$ ). Статистическая значимость различий исследуемых параметров между группами проведена с применением парного непараметрического критерия Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** На момент проведения обследования у пациентов с СД отмечались признаки декомпенсации заболевания по основным клинико-лабораторным показателям, уровень гликированного гемоглобина в сыворотке крови составлял 8,2 [7,6; 8,7] %, что свидетельствовало об отсутствии компенсации при проведении сахароснижающей терапии.

У пациентов с СД наблюдалось увеличение размеров ПЖ и повышение содержания в сыворотке крови как общего, так и свободного ПСА по сравнению с аналогичными показателями в группе здоровых мужчин. Эти различия были статистически значимы ( $p < 0,05$ ) и объяснялись возрастными различиями пациентов в группах исследования. Принципиально важным для нас в этом исследовании являлась диагностика эректильных нарушений у пациентов с СД, а также установление причинно-следственной взаимосвязи хронической гипергликемии с ЭД (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика пациентов с СД и здоровых мужчин по возрасту, объему предстательной железы, шкале МИЭФ-5, уровню ПСА в сыворотке крови (Me  $Q^{25}$ – $Q^{75}$ ) (M  $\pm$  SD)

Table 1. Characteristic of patients with DM and healthy men in terms of age, prostate volume (IEE-5 score, serum PSA level (Me  $Q^{25}$ – $Q^{75}$ ) (M  $\pm$  SD)

Группа исследования	Возраст, лет	Объем ПЖ, см <sup>3</sup>	МИЭФ-5, баллы	ПСА, нг/мл	
				общий	свободный
Сахарный диабет ( $n = 30$ )	54,4 $\pm$ 13,7*	31 [25,9; 47]*	8 $\pm$ 4	0,76* [0,48; 1,4]	0,33* [0,15; 0,55]
Здоровые мужчины ( $n = 15$ )	23,6 $\pm$ 3,4	16 [14; 25,2]	20 $\pm$ 1,5*	0,01 [0,007; 0,06]	0,008 [0,001; 0,04]

Примечание. \* – статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ). То же в табл. 2–5.

При исследовании уровня половых гормонов в сыворотке крови у пациентов с СД отмечалось статистически значимое более высокое содержание ( $p < 0,05$ ) уровня эстрадиола (47,5 [28,2; 80,4] пг/мл по сравнению с таковым в группе здоровых мужчин (24 [18,2; 27,1] пг/мл), однако величина уровня эстрадиола крови не превышала порогового значения нормы (25,8–60,7 пг/мл). Выявленные различия, с нашей точки зрения, объясняются эскалацией процессов превращения тестостерона в эстрадиол, которые зачастую возникают у мужчин, с одной стороны, по мере увеличения возраста, а с другой стороны – в связи с СД и ожирением. Сочетание СД и абдоминального ожирения сопровождается активацией системы фермента СУР 19 (ароматаза), в результате чего происходит снижение тестостерона и повышение эстрадиола крови. В нашем исследовании у пациентов с СД явлений гипогонадизма не выявлено, а уровень общего тестостерона крови составлял (5,2 [3; 7,5] нг/мл). В связи с этим эндокринный фактор как причина ЭД в данном исследовании нами не рассматривался (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Характеристика пациентов с СД и здоровых мужчин по уровню содержания в сыворотке крови половых гормонов (Ме Q<sup>25</sup>–Q<sup>75</sup>)

Table 2. Characteristic of patients with DM and healthy men in terms of serum sex hormones (Ме Q<sup>25</sup>–Q<sup>75</sup>)

Группа исследования	Эстрадиол, пг/мл	Тестостерон, нг/мл	Прогестерон, нг/мл	Пролактин, нг/мл	ФСГ, мМЕ/мл	ЛГ, мМЕ/мл
Сахарный диабет (n = 30)	47,5* [28,2; 80,4]	5,2 [3; 7,5]	0,59 [0,32; 1,1]	11,3 [8,3; 15,3]	4,9 [3,7; 14,6]	7,4 [4,1; 11,4]
Здоровые мужчины (n = 15)	24 [18,2; 27,1]	5,7 [2,32; 8,3]	0,38 [0,19; 1,1]	4,5 [3,9; 6,3]	3,12 [2,6; 5,7]	1,48 [1,2; 4,5]

Диагностику васкулопатий у пациентов с СД осуществляли с помощью УЗИ сосудов бассейна ВПА и ангиографического исследования внутренних подвздошных артерий. Трансперинеальным доступом нами выполнялось УЗДГ ВПА линейным датчиком в сагиттальной и фронтальной плоскостях. Ориентиром для топической локализации ВПА после ее выхода из малого таза при УЗИ являлась условная линия справа и слева, образованная за счет соединения крайних наружных точек линии биспинарум (линия, соединяющая седалищные бугры с двух сторон) с нижней точкой в проекции луковицы губчатого тела ПЧ по средней вертикальной линии. Определяли направление кровотока в ВПА (на промежности) у здоровых мужчин и у пациентов с ЭД, а также тип кровотока (магистральный, магистральный измененный, коллатеральный). Оценивали наружные и внутренние контуры ВПА, изгибы, наличие стенозов и окклюзий. Определяли диаметр, длину ВПА на промежности и глубину ее залегания в мягких тканях промежности. Результаты исследования УЗИ ВПА трансперинеальным доступом и сосудов ПЧ представлены в табл. 3.

Т а б л и ц а 3. ПССК (см/с) в сосудах бассейна ВПА в покое и после фармакологической пробы у пациентов с СД и у здоровых мужчин (Ме Q<sup>25</sup>–Q<sup>75</sup>)

Table 3. Peak velocity of systolic blood flow (cm/s) in the IPA pool vessels at rest and after pharmacological test of patients with DM and of healthy men (Ме Q<sup>25</sup>–Q<sup>75</sup>)

Артерия бассейна ВПА		Сахарный диабет (n = 30)	Здоровые мужчины (n = 15)
<i>A. pudenda interna sin.</i>	Покой	14,6 [0; 20]	21,5* [18,3; 24,3]
	Проба	24,8 [14; 55]	64,2* [38,2; 65,1]
<i>A. pudenda interna dex.</i>	Покой	15,1 [0; 22]	20,2* [19,1; 25,2]
	Проба	20,3 [11; 35]	62,1* [35,6; 64,3]
<i>A. dorsalis penis sin.</i>	Покой	9,7 [0; 16,9]	12,2* [9,1; 13,8]
	Проба	23,7 [10; 45]	52,1* [28,3; 54,3]
<i>A. dorsalis penis dex.</i>	Покой	10,4 [5; 10,5]	14* [12,1; 15,2]
	Проба	25,3 [12,6; 38,4]	49,1* [25,6; 55,2]
<i>A. profunda penis sin.</i>	Покой	2,7 [0; 13]	9,7* [8,1; 15,2]
	Проба	22,7 [6,4; 35,2]	30,2* [22,4; 35,6]
<i>A. profunda penis dex.</i>	Покой	4,2 [4; 9]	9,5* [8,6; 14,2]
	Проба	22,8 [12,8; 28,5]	34,2* [20,1; 37,8]

После получения результатов исследования нами делалось заключение о наличии или отсутствии признаков нарушения артериального кровообращения в ВПА. Выполняли УЗДГ ПЧ, оценивали показатели кровотока в артериях ПЧ и сопоставляли с данными трансперинеального УЗИ ВПА у здоровых мужчин и у пациентов с ЭД.

В состоянии покоя у здоровых мужчин ПССК в ВПА составляла 21,5 [18,3; 24,3] см/с, после фармагрузки – 64,2 [38,2; 65,1] см/с (у лиц как европеоидной, так и негроидной расы). Показатели ПССК в ВПА у здоровых мужчин в состоянии де- и тумесценции были в 2–3 раза выше, чем в артериях ПЧ.

У всех здоровых мужчин, в отличие от пациентов с СД и ЭД, на промежности отмечался магистральный неизмененный тип артериального кровотока, в 100 % случаев ход ВПА на промежности был прямолинейным.

При сопоставлении данных УЗДГ ВПА и ангиографического исследования малого таза у здоровых мужчин отмечалось полное совпадение результатов, что свидетельствовало об удовлетво-

рительной артериальной перфузии в ВПА, артериях ПЧ, отсутствии стенозов, окклюзий и правдоподобии трансперинеального УЗДГ ВПА.

При УЗДГ у всех здоровых мужчин (100 % случаев) при интракавернозном введении простагландина E1 зафиксирована реакция ВПА в виде расширения просвета артерии более чем на 50 % от исходного диаметра, после фармпробы ВПА выпрямлялась и ее контуры становились более отчетливыми. Диаметр ВПА достигал максимального значения (2,6 мм) и был статистически значимо больше, чем в группе пациентов с СД ( $p < 0,05$ ).

У пациентов с СД в сравнении со здоровыми мужчинами при трансперинеальном УЗИ ВПА и артерий ПЧ отмечались различной степени выраженности фиброзно-склеротические изменения в кавернозной ткани ПЧ, статистически значимые низкие показатели ПССК в ВПА и артериях ПЧ как в состоянии де-, так и в состоянии тумесценции ( $p < 0,05$ ). У 100 % пациентов с СД независимо от типа диабета при УЗИ кавернозных тел ПЧ определялись кавернозный фиброз, фибро-склероз белочной оболочки кавернозных тел ПЧ. У 20 (67 %) пациентов с СД реакция увеличения просвета ВПА на интракавернозное введение вазоактивного препарата отсутствовала или была невыраженной (менее 50 % от исходного диаметра сосуда). Диаметр ВПА на промежности после фармпробы был статистически значимо меньше (1,5–2,1 мм), чем у здоровых мужчин ( $p < 0,05$ ). У всех пациентов с СД отмечались ультразвуковые признаки ангиосклероза ВПА и артерий ПЧ, что объясняло сниженную реакцию артерии на фармакологическую стимуляцию. У 6 (19,8 %) пациентов с СД выявлены стенозы и полная окклюзия ВПА. При УЗИ ВПА у 24 (81,2 %) пациентов с СД на промежности выявлен магистральный неизмененный тип кровотока, а у 6 (19,8 %) мужчин – магистральный измененный. Прямолинейность хода ВПА на промежности наблюдалась у 24 (81,2 %) пациентов (табл. 4).

Таблица 4. Морфометрические и гемодинамические показатели ВПА при трансперинеальном УЗИ у пациентов с СД и у здоровых мужчин в покое и после фармакологической пробы

Table 4. Morphometric and hemodynamic IPA indices during transperineal ultrasound examination of patients with DM and healthy men at rest and after pharmacological test

Исследуемый параметр		Сахарный диабет ( $n = 30$ )	Здоровые мужчины ( $n = 15$ )
Протяженность ВПА, см		2,1–4,5	2,8–4,5
Глубина залегания ВПА, см		2–2,4	1,5–2,6
Диаметр ВПА, мм	Покой	1,0–2,0	1,0–2,2
	Проба	1,5–2,1	1,9–2,6*
Ход ВПА:			
прямолинейный		24 (81,2 %)	50 (100 %)*
непрямолинейный		6 (19,8 %)	
Стенозы		4 (13,2 %)	Нет
Окклюзии		2 (6,6 %)	Нет
Реакция расширения просвета ВПА >50 %		10 (33 %)	50 (100 %)*
Магистральный неизмененный кровоток		24 (81,2 %)	50 (100 %)
Магистральный измененный кровоток		6 (19,8 %)	–
Коллатеральный кровоток		–	–

Тип кровотока в ВПА имеет важное диагностическое значение. В норме это магистральный неизмененный тип кровотока. При патологических изменениях в артерии (ангиосклерозе, стенозе, окклюзии) происходит изменение типа кровотока. При незначительных изменениях просвета и эластичности стенки появляется сначала магистральный измененный кровоток, а при полной окклюзии – коллатеральный. У 2 (6,6 %) пациентов на фоне недостаточности артериальной перфузии в артериях ПЧ выявлена повышенная (более 10 см/с) пиковая скорость кровотока в глубокой тыльной вене ПЧ, что свидетельствовало о венозной утечке.

При анализе 60 тазовых половин у 30 пациентов с СД (ДККА, МРТ-ангиография) стенозы и окклюзии ВПА выявлены в 13 случаях (26 тазовых половинах). Обнаруженные изменения у пациентов с СД при ангиографическом исследовании представлены одно- или двусторонними обрывами ВПА в тазовом и экстратазовом отделах. В ряде случаев в аорто-подвздошных артериях



Рис. 1. Динамическая компьютерная контрастная ангиография ВПА слева (Volume rendering (изображение 1) и 3D mip (изображение 2)) и эхограмма ВПА при трансперинеальном УЗИ (изображение 3) у здорового мужчины (*a* – тазовый отдел, *b* – экстратазовый отдел, *c* – тыльная артерия полового члена)

Fig. 1. Dynamic computer contrast angiography of IPA from the left (Volume rendering (image 1) and 3D mip (image 2)) and IPA ultrasonogram during transperineal ultrasound examination (image 3) of healthy man (*a* – pelvic area, *b* – extrapelvic area, *c* – dorsal artery of penis)

с двух сторон наблюдались признаки мультифокального атеросклероза различной степени выраженности, вплоть до полной окклюзии устья внутренней подвздошной артерии и явлениями кальциноза атеросклеротических бляшек (рис. 1, 2).

ЭНМГ-обследование пациентов с СД и ЭД выявило следующие изменения: среднее значение ( $M \pm SD$ ) амплитуды М-ответа составляло  $0,075 \pm 0,004$  мВ, амплитуда сенсорного ответа –  $3,2 \pm 0,21$  мкВ.

Полученные результаты ЭНМГ (латентность, амплитуда) в последующем расценивались нами либо как норма, либо как патология с одно- или двусторонним аксональным поражением сенсорных и/или моторных порций нервов ПЧ. Следует отметить, что в случае нейропатических

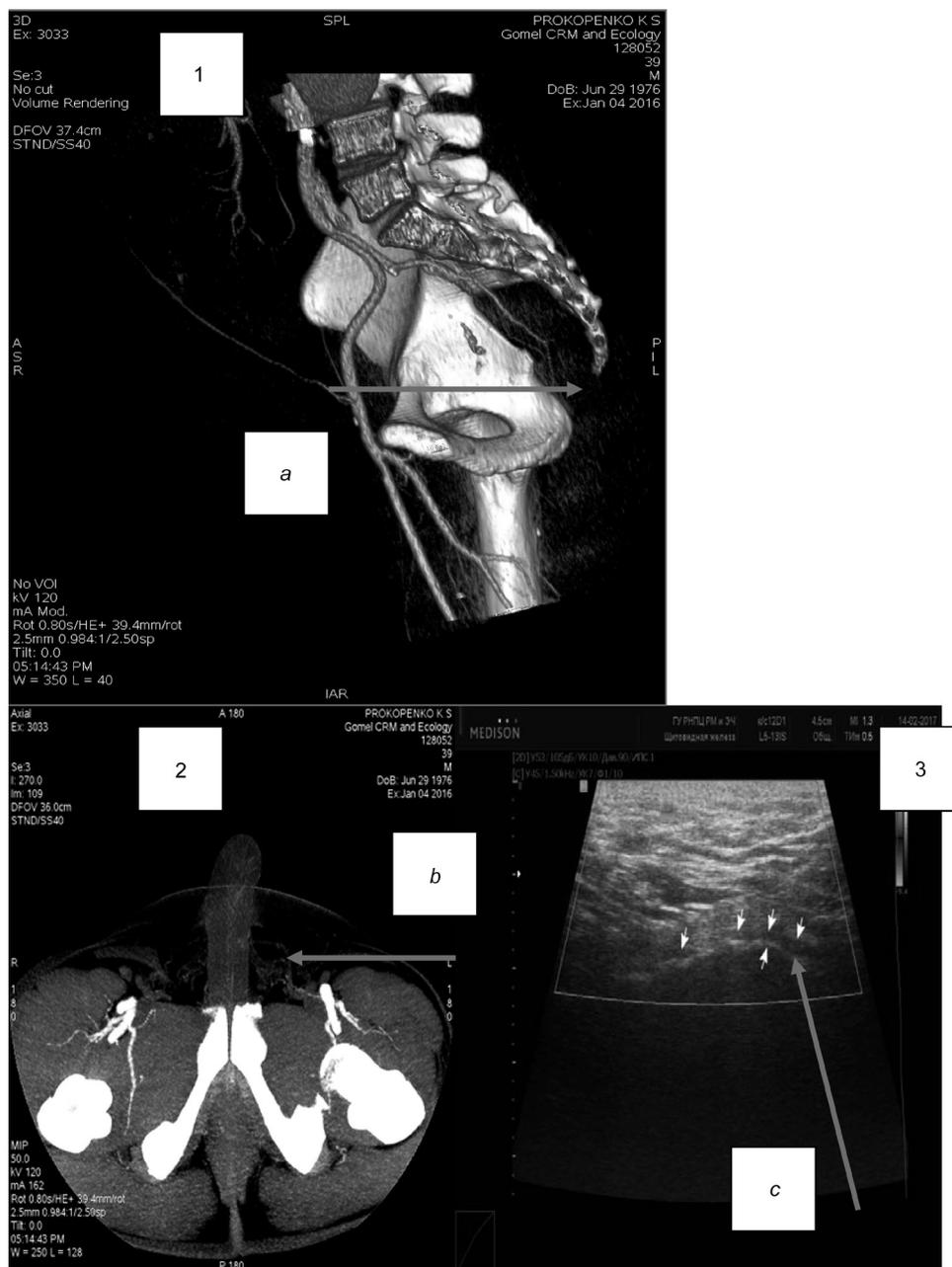


Рис. 2. Динамическая компьютерная контрастная ангиография ВПА (Volume rendering (изображение 1) и 3D mip (изображение 2)) (a – тазовый отдел, окклюзия на уровне *spina ischiadica* справа; b – отсутствие визуализации тыльных артерий полового члена) и эхограмма ВПА (изображение 3) при трансперинеальном УЗИ у мужчины с эректильной дисфункцией с признаками дистального стенозо-окклюзионного поражения и отсутствием кровотока в артерии (c)

Fig. 2. Dynamic computer contrast angiography of IPA from the left (Volume rendering (image 1) and 3D mip (image 2)) (a – pelvic area, occlusion at the *spina ischiadica* level from the right; b – no visualization of dorsal arteries of penis) and IPA ultrasonogram (image 3) during transperineal ultrasound examination of men with erectile dysfunction involving distal stenosis and occlusion changes and no artery blood flow (c)

нарушений у пациентов с СД отмечалось увеличение (по сравнению со здоровыми мужчинами) латентного времени до достижения максимальной амплитуды М-ответа и сенсорного ответа. У пациентов с СД, по данным ЭНМГ, в 100 % случаев выявлены различной степени выраженности явления нейропатии – от легких нарушений проводимости до двусторонних выраженных аксонопатий моторных и/или сенсорных порций нервов ПЧ.

Результаты ЭНМГ-обследования здоровых мужчин статистически значимо отличались от результатов, полученных у пациентов с СД и ЭД ( $p < 0,05$ ). Среднее значение ( $M \pm SD$ ) амплитуды

Таблица 5. Показатели ЭНМГ-обследования пациентов с СД (I) и здоровых мужчин (II) (M ± SD)

Table 5. Indices of ENMG examination of patients with DM (I) and healthy men (II) (M ± SD)

Исследуемый нерв	Латентность, мс (общая)		Амплитуда ответа (общая)	
	I	II	I	II
<i>n. pudendus</i> (моторные волокна), правый и левый	8,7 ± 1,1	3,3 ± 0,74*	0,075 ± 0,04 мВ	0,19 ± 0,02* мВ
<i>n. dorsalis penis</i> (сенсорные волокна), правый и левый	3,6 ± 0,92	2,3 ± 0,48*	3,2 ± 0,21 мкВ	11,4 ± 1,1* мкВ

M-ответа составляло у здоровых мужчин  $0,19 \pm 0,02$  мВ, а амплитуда сенсорного ответа –  $11,4 \pm 1,1$  мкВ (табл. 5).

При контрольном анкетировании пациентов с СД и ЭД по шкале МИЭФ-5 через 3 мес. после проведенного обследования и курса консервативной терапии улучшения половой функции не выявлено.

**Вывод.** Ведущим патогенетическим фактором в развитии ЭД у пациентов с СД является нейропатия. ДН с аксональным поражением сенсорных и моторных порций ПЧ сочетается с микро- макроангиопатией сосудов бассейна ВПА, ангиосклерозом артерий ПЧ и явлениями кавернозного фиброза. У пациентов с СД и ЭД наблюдалось нарушение артериальной перфузии в ВПА вследствие стенозов и окклюзий на фоне мультифокального атеросклероза. У пациентов с СД отмечалось снижение реакции ВПА на фармакологическую стимуляцию, причиной которой являлись ангиосклероз и утрата эластичности стенки артерии.

В связи с выраженными нарушениями иннервации ПЧ и артериальной перфузии в ВПА и сосудах ПЧ, которые были подтверждены результатами УЗИ, ЭНМГ, ангиографического исследования, отмечалась неэффективность консервативной терапии у пациентов с СД и ЭД тяжелой степени. Длительный прием пациентами с СД нейропротекторов, ингибиторов ФДЭ-5, антихолинэстеразных препаратов, применение ударно-волновой терапии на область ПЧ при ЭД тяжелой степени не приводил к улучшению эрекции по шкале МИЭФ-5.

По данным ряда авторов, у 20–40 % пациентов с СД консервативная терапия ингибиторами ФДЭ-5 оказывалась неэффективной [26].

Необходимо признать, что если консервативная терапия ЭД легкой степени у пациентов с СД приводит к улучшению половой функции, то единственно возможным методом коррекции ЭД тяжелой степени у пациентов с СД, с нашей точки зрения и по мнению многих исследователей, является эндофаллопротезирование. Учитывая наличие у пациентов с СД нейро- и микроангиопатии, проведение реваскуляризирующих открытых и эндоваскулярных операций на артериях бассейна ВПА с целью улучшения артериальной перфузии в случае выявленных стенозо-окклюзионных поражений ВПА необходимо признать нецелесообразным [20, 23, 24, 26, 27, 33, 36, 37].

Непременным условием для рассмотрения вопроса эндофаллопротезирования у пациентов с ЭД на фоне СД является компенсация углеводного обмена. Учитывая высокий риск развития в постимплантационном периоде у пациентов с СД инфекционных перипротезных осложнений, оптимальным, по нашему мнению, является использование простых полужестких эндофаллопротезов, которые могут быть легко и без существенных материальных потерь удалены в случае необходимости.

#### Список использованных источников

1. International Diabetes Federation 2013. – Available from: <http://www.Idf.org/worlddiabetesday/toolkit/gp/facts-figures>.
2. Кравчун, Н. А. Урогенитальная форма диабетической автономной нейропатии: распространенность, этиопатогенез, диагностика / Н. А. Кравчун // Проблемы эндокрин. патологии. – 2012. – № 2. – С. 80–90.
3. Epidemiologic assessment of erectile function in a selected mexican population / P. N. Hernandez Moreno [et al.] // Ginecol. Obstet. Mex. – 2003. – Vol. 71. – P. 332–342.
4. Nusbaum, M. R. Erectile dysfunction: prevalence, etiology, and major risk factors / M. R. Nusbaum // J. Am. Osteopath. Assoc. – 2002. – Vol. 102, N 12 (suppl. 4). – P. 1–6.
5. Хайкина, Е. В. Инфекции мочевыводящих путей у больных сахарным диабетом / Е. В. Хайкина, Г. К. Решедько, М. В. Морозов // Клини. микробиология и антимикроб. химиотерапия. – 2008. – Т. 10, № 3. – С. 36–44.
6. Верткин, А. Л. Диабетическая кардиоваскулярная автономная нейропатия / А. Л. Верткин // Лечащий врач. – 2006. – № 4. – С. 29–31.

7. Эректильная дисфункция как проявление урогенитальной автономной нейропатии у больных сахарным диабетом 1-го типа: эпидемиология, классификация, патофизиология, диагностика и методы лечения / Г. Р. Галстян [и др.] // Сахар. диабет. – 2014. – № 2. – С. 126–132.
8. Hampel, C. Diabetes mellitus and bladder function. What should be considered? / C. Hampel, R. Gillizer, Sefal Raherni // Urologe. – 2003. – Vol. 42. – С. 1556–1563.
9. Деревянко, И. И. Осложненные инфекции мочевыводящих путей: диагностика и лечение / И. И. Деревянко // Consil. Med. – 2003. – Vol. 5, N 7. – С. 376–378.
10. Особенности заболеваний мочеполовой системы при сахарном диабете / Р. В. Роживанов [и др.] // Сахар. диабет. – 2009. – № 2. – С. 40–45.
11. Prevalence of and risk factors for erectile dysfunction in Hong Kong diabetic patients / S. C. Siu [et al.] // Diabet Med. – 2001. – Vol. 18, N 9. – P. 732–738.
12. Vinik, A. Erectile dysfunction in diabetes / A. Vinik, D. Richardson // Diabetes Rev. – 1998. – N 6 (1). – P. 16–33.
13. Impotence and its medical and psychosocial correlates: result of the Massachusetts Male Aging Study // H. A. Feldman [et al.] // J. Urol. – 1994. – Vol. 151. – P. 54–61.
14. Bacon, C. G. Association of type and duration of diabetes with erectile dysfunction in a large cohort of men / C. G. Bacon, F. B. Hu, E. Giovannucci // Diabetes Care. – 2002. – Vol. 25, N 8. – P. 1417.
15. Нарушения половой функции у мужчин при сахарном диабете / под ред. М. И. Коган. – М. : [б. и.], 2005. – 224 с.
16. Do impotent men with diabetes have more severe erectile dysfunction and worse quality of life than the general population of impotent patients? Results from the Exploratory Comprehensive Evaluation of Erectile Dysfunction (ExCEED) / D. F. Penson [et al.] // Diabetes Care. – 2003. – Vol. 26, N 4. – P. 1093–1099.
17. Дедов, И. И. Эндокринология : учебник для студентов мед. вузов / И. И. Дедов, Г. А. Мельниченко, В. В. Фадеев. – М. : Медицина, 2000. – 632 с. – (Учеб. лит. : для студентов мед. вузов).
18. Роживанов, Р. В. Эректильная дисфункция у больных сахарным диабетом по данным контрольно-эпидемиологического исследования / Р. В. Роживанов, Ю. И. Сунцов, Д. Г. Курбатов // Сахар. диабет. – 2009. – № 2. – С. 51–54.
19. Prevalence of erectile dysfunction and its correlates: a population-based study in Morocco / N. S. Berrada [et al.] // Int. J. Impot. Res. – 2003. – Vol. 15, suppl. 1. – P. 53–57.
20. Импотенция: интегрированный подход к клинической практике: пер. с англ. / под ред. А. Грегуара, Дж. П. Прайора. – М. : Медицина, 2000. – 240 с.
21. Comorbidities associated with diabetic foot complications among Asian Americans in southern California / P. Y. Han [et al.] // J. Am. Podiatr. Med. Assoc. – 2003. – Vol. 93, N 1. – P. 37–41.
22. Восстановление фертильности у больных сахарным диабетом 1-го типа / Д. Г. Курбатов [и др.] // Андрология и генитал. хирургия. – 2013. – № 2. – С. 51–54.
23. Особенности коррекции сексуальной функции у мужчин, больных сахарным диабетом / Р. В. Роживанов [и др.] // Сахар. диабет. – 2010. – № 3. – С. 30–31.
24. Андрология. Мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы : пер. с англ. / под ред. Э. Нишлаг, Г. Бере. – М. : Мед. информ. агентство, 2005. – 554 с.
25. Combination therapy of Tadalafil and Testosterone in hypogonadal non-responders / A. Yassin [et al.] // Int. J. of Imp. Res. – 2003. – Vol. 15 (suppl. 6). – P. 27.
26. Бузиашвили, И. И. Эректильная дисфункция у больных сахарным диабетом / И. И. Бузиашвили // Сахар. диабет. – 2000. – № 3. – С. 12–22.
27. Эректильная дисфункция у больных с малой длительностью сахарного диабета 2-го типа / Р. В. Роживанов [и др.] // Сахар. диабет. – 2004. – № 3. – С. 26–27.
28. Frequent occurrence of hypogonadotropic hypogonadism in type 2 diabetes / S. Dhindsa [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2004. – Vol. 89, N 11. – P. 5462–5468.
29. Erectile dysfunction and lower androgenicity in type 1 diabetic patients / O. Alexopoulou [et al.] // Diabetes Metab. – 2001. – Vol. 27, N 3. – P. 329–336.
30. Quality of life effects of alprostadil therapy for erectile dysfunction: results of a trial in Europe and South Africa / R. J. Willke [et al.] // Int. J. Impot. Res. – 1998. – Vol. 10. – P. 239–246.
31. Fonseca, V. Fredlund Impact of diabetes mellitus on the severity of erectile dysfunction and response to treatment: analysis of data from tadalafil clinical trials / V. Fonseca, A. Seftel, J. Denne // Diabetologia. – 2004. – Vol. 47. – P. 1914–1923.
32. Kongkanand, A. The Thai Erectile Dysfunction Epidemiological Study Group: prevalence of erectile dysfunction in Thailand / A. Kongkanand // Int. J. Androl. – 2000. – Vol. 23, suppl. 2. – P. 77–80.
33. Курбатов, Д. Г. Возможности терапии генитальной нейропатии ингибиторами фосфодиэстеразы V типа у больных сахарным диабетом / Д. Г. Курбатов, Р. В. Роживанов // Урология. – 2009. – № 5. – С. 48–49.
34. Есауленко, Д. И. Эректильная дисфункция как одно из проявлений сахарного диабета / Д. И. Есауленко, Р. В. Роживанов, С. Ю. Калинин // Сахар. диабет. – 2005. – № 1. – С. 32–33.
35. Маркосян, Г. Г. Новые технологии в диагностике и восстановительном лечении расстройств мочеиспускания после хирургического лечения рака предстательной железы / Г. Г. Маркосян, Н. Б. Коржачкина, С. С. Никитин // Онкоурология. – 2012. – № 1. – С. 82–87.
36. Эректильная дисфункция у больных сахарным диабетом. Роль силденафила цитрата (виагры) в диагностике и лечении : пособие для врачей / С. Ю. Калинин [и др.]. – М., 2003. – 45 с.
37. Sexual function in men with diabetes type 2: association with glycemic control / J. H. Romeo [et al.] // J. Urol. – 2000. – Vol. 163, N 3. – P. 788–791.

## References

1. *International Diabetes Federation 2013*. Available from: <http://www.Idf.org/worlddiabetesday/toolkit/gp/facts-figures>.
2. Kravchun N. A. Urogenital form of diabetic autonomous neuropathy: prevalence, etiopathogenesis, diagnostics. *Problemy jendokrinoj patologii* [Problems of Endocrine Pathology], 2012, no. 2, pp. 80–90. (in Russian).
3. Hernandez Moreno P. N., Mendoza Martinez R., Hernandez Marin I., Zepeda Z. Epidemiologic assessment of erectile function in a selected mexican population. *Ginecologia y Obstetrica de Mexico*, 2003, vol. 71, pp. 332–342.
4. Nusbaum M. R. Erectile dysfunction: prevalence, etiology, and major risk factors. *Journal of the American Osteopathic Association*, 2002, vol. 102, no. 12 (suppl. 4), pp. 1–6.
5. Hajkina E. V., Reshed'ko G. K., Morozov M. V. Infections of urinary tract at patients with a diabetes mellitus. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija* [Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy], 2008, vol. 3, no. 3, pp. 36–44. (in Russian).
6. Vertkin A. L. Diabetic cardiovascular autonomous neuropathy. *Lechashhij vrach* [Attending Physician], 2006, no. 4, pp. 29–31. (in Russian).
7. Galstjan G. R., Shvarc Ja. G., Dubskij S. A., Lepetuhin A. E., Rozhivanov R. V., Kurbatov D. G. Erectile dysfunction as implication of urogenital autonomous neuropathy at patients with a diabetes mellitus of 1 type: epidemiology, classification, pathophysiology, diagnostics and methods of treatment. *Diabetes Mellitus*, 2014, no. 2, pp. 126–132. (in Russian).
8. Hampel C., Gillizer R., Raherni Sefal. Diabetes mellitus and bladder function. What should be considere? *Urologe*, 2003, vol. 42, pp. 1556–1563.
9. Derevjanko I. I. The complicated infections of urinary tract: diagnostics and treatment. *Consilium Medicum*, 2003, vol. 5, no. 7, pp. 376–378. (in Russian).
10. Rozhivanov R. V., Akimova A. N., Dubskij S. A., Kurbatov D. G., Dedov I. I. Features of diseases of genitourinary system at a diabetes mellitus. *Diabetes Mellitus*, 2009, no. 2, pp. 40–45. (in Russian).
11. Siu S. C., Lo S., Wong K. W., Ip K. M., Wong Y. S. Prevalence of and risk factors for erectile dysfunction in Hong Kong diabetic patients. *Diabetic Medicine*, 2001, vol. 18, no. 9, pp. 732–738.
12. Vinik A., Richardson D. Erectile dysfunction in diabetes. *Current Diabetes Reviews*, 1998, vol. 6, no. 1, pp. 16–33.
13. Feldman H. A., Goldstein I., Hatzichristou D. G., Krane R. J., McKinlay J. B. Impotence and its medical and psychosocial correlates: result of the Massachusetts Male Aging Study. *Journal of Urology*, 1994, vol. 151, pp. 54–61.
14. Bacon C. G., Hu F., Giovannucci E. Association of type and duration of diabetes with erectile dysfunction in a large cohort of men. *Diabetes Care*, 2002, vol. 25, no. 8, p. 1417.
15. Disturbances of sexual function at men at a diabetes mellitus, in Kogan M. I. (ed.). Moscow, 2005, 224 p. (in Russian).
16. Penson D. F., Latini D. M., Lubeck D. P., Wallace K.L., Henning J. M., Lue T. F. Do impotent men with diabetes have more severeerectile dysfunction and worse quality of life than the general population of impotent patients? Results from the Exploratory Comprehensive Evaluation of Erectile Dysfunction (ExCEED). *Diabetes Care*, 2003, vol. 26, no. 4, pp. 1093–1099.
17. Dedov I. I., Mel'nichenko G. A., Fadeev V. V. *Endocrinology: Textbook for students of medical schools*. Moscow, Meditsina [Medicine], 2000, 632 p. (in Russian).
18. Rozhivanov R. V., Suncov Ju. I., Kurbatov D. G. Erectile dysfunction at patients with a diabetes mellitus according to a control and epidemiological research. *Diabetes Mellitus*, 2009, no. 2, pp. 51–54. (in Russian).
19. Berrada N. S., Kadri S., Mechakra-Tahiri., Nejari C. Prevalence of erectile dysfunction and its correlates: a population-based study in Morocco. *International Journal of Impotence Research*, 2003, no. 15 (suppl. 1), pp. 3–7. doi:10.1038/sj.ijir.3900968.
20. *Impotency: integrated approach to clinical practice: translation from English*. Ed. by A. Greguara, Dzh. P. Prajora. Moscow, Meditsina [Medicine], 2000, 240 p. (in Russian).
21. Han P. Y., Ezquerro R., Pan K. M., Hwang S., Chung J., Lu J. J. Comorbidities associated with diabetic foot complications among Asian Americans in southern California. *Journal of the American Podiatric Medical Association*, 2003, vol. 93, no. 1, pp. 37–41. doi: 10.7547/87507315-93-1-37.
22. Kurbatov D. G., Galstjan G. R., Rozhivanov R. V., Lepetuhin A. E., Dubskij S. A., Shvarc J. G. Restoration of a fecundity at patients with a diabetes mellitus of the 1st type. *Andrologija i genital'naja hirurgija* [Andrology and Genital Surgery], 2013, no. 2, pp. 51–54. (in Russian).
23. Rozhivanov R. V., Lepetuhin A. E., Dubskij S. A., Kurbatov D. G. Features of correction of sex function at the men sick with a diabetes mellitus. *Saharnyj diabet* [Diabetes mellitus], 2010, no. 3, pp. 30–31. (in Russian).
24. *Andrology. Male health and dysfunction of genesial system: translation from English*. Ed. by Je. Nishlag, G. M. Bere. Moscow, Med. inform. agentstvo, 2005, 554 p. (in Russian).
25. Yassin A., Diede H. E., Saad F., Traish A. Combination therapy of Tadalafil and Testosterone in hypogonadal non-responders. *International Journal of Impotence Research*, 2003, vol. 15 (suppl. 6), p. 27.
26. Buziashvili I. I. Erectile dysfunction at patients with a diabetes mellitus. *Diabetes Mellitus*, 2000, no. 3, pp. 12–22. (in Russian).
27. Rozhivanov R. V., Suncov Ju. I., Kalinichenko S. J., Mel'nichenko G. A., Shishkina N. S., Bondarenko O. N. Erectile dysfunction at patients with small duration of diabetes mellitus of 2 types. *Diabetes Mellitus*, 2004, no. 3, pp. 26–27. (in Russian).
28. Dhindsa S., Prabhakar S., Sethi M., Bandyopadhyay A., Chaudhuri A., Dandona P. Frequent occurrence of hypogonadotropic hypogonadism in type 2 diabetes. *Journal of Clinical. Endocrinology and Metabolism*, 2004, vol. 89, no. 11, pp. 5462–5468.

29. Alexopoulos O., Jamart J., Maiter D., Hermans M. P. Erectile dysfunction and lower androgenicity in type 1 diabetic patients. *Diabetes and Metabolism*, 2001, vol. 27 (3), pp. 329–336.

30. Willke R. J., Yen W., Parkerson G. R., Linet O. I., Erder M. H., Glick H. A. Quality of life effects of alprostadil therapy for erectile dysfunction: results of a trial in Europe and South Africa. *International Journal of Impotence Research*, 1998, vol. 10, pp. 239–246.

31. Fonseca V., Seftel A., Denne J., Fredlund Impact of diabetes mellitus on the severity of erectile dysfunction and response to treatment: analysis of data from tadalafil clinical trials. *Diabetologia*, 2004, vol. 47, pp. 1914–1923.

32. Kongkanand A. The Thai Erectile Dysfunction Epidemiological Study Group: prevalence of erectile dysfunction in Thailand. *International Journal of Andrology*, 2000, vol. 23, suppl. 2, pp. 77–80.

33. Kurbatov D. G., Rozhivanov R. V. Possibilities of therapy of genital neuropathy type phosphodiesterase V inhibitors at patients with a diabetes mellitus. *Urologija* [Urology], 2009, no. 5, pp. 48–49. (in Russian).

34. Esaulenko D. I., Rozhivanov R. V., Kalinichenko S. J. Erectile dysfunction as one of implications of a diabetes mellitus. *Diabetes Mellitus*, 2005, no. 1, pp. 32–33. (in Russian).

35. Markosjan G. G., Korzhachkina N. B., Nikitin S. S. New technologies in diagnostics and recovery treatment of disorders of an emiction after surgical cancer therapy of a prostate. *Onkourologija* [Oncourology], 2012, no. 1, pp. 82–87. (in Russian).

36. Kalinichenko S. J., Kozlov G. I., Dedov I. I. Erectile dysfunction at patients with a diabetes mellitus. A role of a sildeneafil of Citras (viagra) in diagnostics and treatment. A grant for doctors. Moscow, 2003, 45 p. (in Russian).

37. Romeo J. H., Seftel A. D., Madhun Z. T., Aron D. C. Sexual function in men with diabetes type 2: association with glycemic control. *Journal Urology*, 2000, vol. 163, no. 3, pp. 788–791.

### Информация об авторах

*Повелица Эдуард Анатольевич* – канд. мед. наук, уролог. Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (ул. акад. Павлова, 22-79, 246029, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: povelitsaed@gmail.com.

*Сердюченко Николай Сергеевич* – академик, д-р мед. наук, профессор. Президиум Национальной академии наук Республики Беларусь (пр. Независимости, 66, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

*Доста Николай Иванович* – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь).

*Ващенко Елена Николаевна* – эндокринолог. Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (ул. акад. Павлова, 22-79, 246029, г. Гомель, Республика Беларусь).

*Малков Алексей Борисович* – невролог. Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (ул. акад. Павлова, 22-79, 246029, г. Гомель, Республика Беларусь).

*Пархоменко Ольга Викторовна* – врач ультразвуковой диагностики. Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (ул. акад. Павлова, 22-79, 246029, г. Гомель, Республика Беларусь).

*Доманцевич Виктор Анатольевич* – рентгенолог. Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (ул. акад. Павлова, 22-79, 246029, г. Гомель, Республика Беларусь).

*Ниткин Дмитрий Михайлович* – канд. мед. наук, доцент, заведующий кафедрой. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь).

*Шестерня Александр Михайлович* – хирург. Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (ул. акад. Павлова, 22-79, 246029, г. Гомель, Республика Беларусь).

### Information out the authors

*Povelitsa Eduard Anatol'evich* – Ph. D. (Med.), urologist. Republican Scientific Center for Radiation Medicine and Human Ecology (22-79, Akad. Pavlov Str., Gomel, Republic of Belarus). E-mail: povelitsaed@gmail.com.

*Serdjuchenko Nikolai Sergeevich* – Academician, D. Sc. (Med.), Professor. Presidium of the National Academy of Sciences of the Republic of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

*Dosta Nikolaj Ivanovich* – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus).

*Vaschenko Elena Nikolaevna* – endocrinologist. Republican Scientific Center for Radiation Medicine and Human Ecology (22-79, Akad. Pavlov Str., Gomel, Republic of Belarus).

*Malkov Aleksej Borisovich* – neurologist. Republican Scientific Center for Radiation Medicine and Human Ecology (22-79, Akad. Pavlov Str., Gomel, Republic of Belarus).

*Parhomenko Ol'ga Viktorovna* – ultrasound diagnostician doctor. Republican Scientific Center for Radiation Medicine and Human Ecology (22-79, Akad. Pavlov Str., Gomel, Republic of Belarus).

*Domantsevich Viktor Anatol'evich* – radiologist. Republican Scientific Center for Radiation Medicine and Human Ecology (22-79, Akad. Pavlov Str., Gomel, Republic of Belarus).

*Nitkin Dmitrij Mihajlovich* – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Head of the Department. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus).

*Shesternya Aleksandr Mihajlovich* – surgeon. Republican Scientific Center for Radiation Medicine and Human Ecology (22-79, Akad. Pavlov Str., Gomel, Republic of Belarus).

**Для цитирования**

Эректильная дисфункция у пациентов с автономной диабетической нейропатией / Э. А. Повелица [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2017. – № 2. – С. 89–103.

**For citation**

Povelitsa E., Serdjuchenko N., Dosta N., Vaschenko E., Malkov A., Parhomenko O., Domantsevich V., Nitkin D., Shesternya A. Erectile dysfunction in patients with autonomic diabetic neuropathy. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2017, no. 2, pp. 89–103.

**А. С. Белякова<sup>1</sup>, А. А. Синюшин<sup>1</sup>, О. Г. Воскресенская<sup>1</sup>, В. П. Голубович<sup>2</sup>, А. А. Каменский<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация*

<sup>2</sup>*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

### **ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО АНАЛОГА ФРАГМЕНТА АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНА НА ПРОЦЕСС ОБУЧЕНИЯ КРЫС**

Аргинин-вазопрессин – пептидный гормон, имеющий ряд экстрагормональных эффектов. В частности, он оказывает влияние на процессы обучения и выработки устойчивости к стрессовым факторам среды. В настоящей работе изучено влияние синтетического аналога фрагмента аргинин-вазопрессина, Ac-D-SPRG, на процесс обучения крыс. Этот аналог имитирует фрагмент исходного гормона, образующийся при его эндогенном расщеплении. Для повышения устойчивости соединения вещества в его состав введен D-серин.

Исследования проведены на половозрелых самцах нелинейных белых крыс с использованием стандартных поведенческих тестов. Показано, что данный препарат не оказывает значимого влияния на обучение при положительном пищевом подкреплении. В тесте на выработку условной реакции пассивного избегания применение тестируемого препарата в больших дозах оказывало положительное действие. Наиболее существенным действием аналога установлено в тесте на выработку условной реакции активного избегания. Главный объект действия аналога – реакция на условный звуковой сигнал. По итогам работы сделан вывод о том, что улучшение обучения животных с помощью используемого аналога тем сильнее, чем более конкретным, дифференцированным и обособленным является условный сигнал.

*Ключевые слова:* обучение, регуляторные пептиды, синтетический аналог, аргинин-вазопрессин, крыса, положительное подкрепление, условный сигнал.

**A. S. Belyakova<sup>1</sup>, A. A. Sinjushin<sup>1</sup>, O. G. Voskresenskaya<sup>1</sup>, V. P. Golubovich<sup>2</sup>, A. A. Kamensky<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation*

<sup>2</sup>*Institute of Bioorganical Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

### **INFLUENCE OF THE SYNTHETIC ANALOG OF THE ARGININE-VASOPRESSIN FRAGMENT ON RAT TRAINING**

Arginine-vasopressin comprises an intriguing peptide hormone having a number of additional effects. It influences the efficiency of training and resistance against stress factors. This work reports the results for the influence of the synthetic analog of the arginine-vasopressin fragment, Ac-D-SPRG on the rat training. A given substance mimics a natural tetrapeptide which results from endogenous lysis of arginine-vasopressin. To make this tetrapeptide more stable in physiological conditions, D-serine was introduced in its sequence. The work was carried out on mature male non-linear rats. The substance appeared to have no influence on the training with positive food reinforcement. In a passive avoidance conditioned reaction test, a substance under test had a positive action in high doses. The most significant effect was recorded in a test of a conditioned reaction of active avoidance of pain stimulus. The main target of the analog action is the reaction to a conditioned sound signal. We concluded that the tested analog improves the animal training with regard to exact, differentiated and expressed conditioned stimulus.

*Keywords:* training, regulatory peptides, synthetic analog, arginine-vasopressin, rat, positive reinforcement, conditioned signal.

**Введение.** Одним из наиболее интересных пептидных гормонов является аргинин-вазопрессин (АВП). Наряду со специфической гормональной активностью он обладает рядом экстрагормональных эффектов [1] и помимо периферического действия вызывает ряд центральных эффектов, модулируя процессы обучения и памяти, а также ответные реакции организма на действие стрессогенных факторов. Впервые ноотропное действие АВП и его фрагментов отмечено в ранних работах группы De Wied [2], где продемонстрирована также независимость этого эффекта от гормонального действия АВП. Работы конца 1960-х годов указывают на то, что АВП положительно влияет на выработку условных реакций активного и пассивного избегания [1]. Кроме того, установлено, что периферическое и внутримозговое введение АВП улучшает показатели обучения при отрицательном пищевом подкреплении [2].

Известно, что АВП распадается в организме на несколько линейных фрагментов, включающих в себя аминокислотные остатки с 4-го по 9-й [3]. Эти метаболиты обладают нейротропной активностью, которая не уступает, а зачастую и превосходит активность целой молекулы АВП в отношении стимуляции поведения, улучшения обучения и памяти [4].

Фрагменты, включающие аминокислотные остатки с 4-го по 9-й, не обладают периферической активностью, свойственной гормону-предшественнику. При любом способе введения эти фрагменты оказывают положительный эффект на обучение и память [5], более селективно воздействуют на поведение при их применении в меньших дозах, чем гормона-предшественника [4]. Изучение влияния фрагментов АВП на выработку навыков показало, что введение фрагментов, включающих аминокислотные остатки с 4-го по 9-й, сразу после сеанса обучения в тесте на условную реакцию активного избегания (УРАИ) способствовало лучшему сохранению выработанного навыка. Наиболее эффективным в этом тесте оказалось введение фрагмента АВП(4-8) [6]. При изучении влияния АВП(4-9) на процессы памяти в радиальном лабиринте с пищевым подкреплением показано, что введение пептида как до, так и после сеанса обучения улучшало воспроизведение выработанного навыка [7].

Ноотропным действием на животных обладает не только АВП(4-9), но и ряд его аналогов. Катионизированный аналог фрагмента АВП(4-9) – К-АВП(4-9) – улучшает процесс формирования навыка при подкожном введении этого пептида за 1,5 ч до повторного тестирования и выработки условной реакции пассивного избегания (УРПИ) [8].

В статье Н. Sato с соавт. [9] показано, что [pGlu(4),Cyt(6)]AVP, аналог АВП(4-9), оказывает разнонаправленное влияние на воспроизведение УРПИ, нарушенное агонистами и антагонистами метаботропного глутаматного рецептора группы II [9]. Другой аналог фрагмента АВП(4-9), pGlu-Asn-Ser-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub> (NC-1900), при подкожном введении оказывает такой же эффект на процессы обучения и памяти, что и природный пептид АВП(4-9), однако действует в дозах, которые в 1000 раз меньше [9, 10].

АВП(5-8) влияет на процессы консолидации памятного следа [6]. Показано, что инъекция фрагмента АВП(5-8) облегчает выработку УРПИ. При введении сразу после обучения действие этого пептида более эффективно, чем действие целой молекулы АВП [11].

В процессе дальнейшего поиска минимальных фрагментов АВП, отвечающих за ноотропный эффект, создан ряд аналогов пептида АВП(6-9) и изучено их влияние на процессы обучения и памяти. В работе [12] синтезированы последовательности, содержащие аминокислотные остатки АВП с 6-го по 9-й: амид Cys-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub> (CPRGa) и Cys-Pro-Arg (CPR). Тетрапептид CPRG не влиял на выработку УРАИ у интактных животных, но был эффективен в условиях ее экспериментального нарушения под действием галоперидола [12].

На основании конформационного анализа сделано предположение, что замена Cys на D-Met приведет к увеличению энзиматической стабильности нового пептида.

В работе Н. С. Пономаревой с соавт. [13] исследована ноотропная активность аналога С-концевого фрагмента АВП(6-9) Ac-D-Met-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub> (Ac-D-MPRG). Показано, что данный пептид наиболее эффективен при выработке навыка с отрицательным подкреплением (УРАИ). При этом зависимость доза–эффект имела колоколообразную форму, характерную для ноотропных пептидов. Наиболее эффективной оказалась доза пептида 0,01 мг/кг. Кроме того, данный тетрапептид вызывал усиление ориентировочно-исследовательского поведения, снижал уровень тревожности и депрессивности животных [13].

Таким образом, замена Cys на D-Met в С-концевом фрагменте АВП привела к созданию нового пептидного препарата с ярко выраженным ноотропным действием, оказывающим влияние при интраназальном введении в чрезвычайно малых дозах. На следующем этапе пептидного синтеза цистеин в 6-м положении был заменен на D-Ser.

Цель работы – изучение поведенческих эффектов синтезированного тетрапептида Ac-D-SPRG.

**Материалы и методы исследования.** Работа проведена на половозрелых самцах нелинейных белых крыс массой 220–250 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище, соблюдая 12-часовой световой режим дня (искусственное освещение с 9.00 до 21.00). Все эксперименты проводили с 10.00 до 20.00.

В опытах использовали аналог С-концевого фрагмента АВП – тетрапептид N-Ac-D-Ser-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub> (Ac-D-SPRG), синтезированный в Институте биоорганической химии НАН Беларуси. Препарат вводили интраназально в объеме 1 мкл/10 г массы тела за 5 мин до тестирования в дозах 10; 1; 0,1 и 0,01 мкг/кг. Контрольным животным вводили эквивалентный объем растворителя (дистиллированной воды).

*Выработка условной реакции пассивного избегания болевого раздражителя.* Выработку УРПИ осуществляли в камере, состоящей из двух отсеков: освещенного, куда животное помещали в начале эксперимента, и темного, с проволочным полом. На пол подавали электрические импульсы прямоугольной формы с электростимулятора ЭСЛ-1. Отсеки сообщались между собой переходом, который перекрывали с помощью задвижки. В начале эксперимента переход был открыт.

Животное помещали в камеру на 2 мин (при этом оно, как правило, находилось в темном отсеке). По истечении этого времени переход перекрывали и на протяжении 3 с на пол подавали напряжение надпороговой силы. Сразу после предъявления болевого раздражителя животное извлекали из камеры.

В опыте фиксировали следующие показатели: латентный период, количество заглядываний в темный отсек камеры, количество выглядываний из темного отсека, количество переходов из отсека в отсек, общее время пребывания в освещенном отсеке, вертикальную двигательную активность (стойки), количество умываний (груминг).

При тестировании выработки УРПИ (через 72 ч) животное также помещали в камеру на 2 мин. При этом регистрировали те же показатели.

*Выработка условного рефлекса активного избегания болевого раздражителя.* УРАИ вырабатывали в камере размером 32×23×36 см, с угловой полкой на высоте 20 см и решетчатым полом, на который подавали электрический ток со стимулятора ЭСЛ-1. Условным раздражителем служил звук звонка продолжительностью 3 с, безусловным подкреплением – удар током (напряжение подбирали индивидуально (в диапазоне 35–80 В), ориентируясь на голосовую реакцию животного). Условной реакцией считали прыжок на полку. При тестировании животное помещали в камеру и адаптировали к условиям эксперимента в течение 25 с, после чего следовало первое предъявление условного сигнала. Интервал между условным сигналом и безусловным подкреплением составлял 2 с. Если ожидаемая условная реакция не происходила в течение 30 с, напряжение отключали. Длина временных интервалов при применении условного раздражителя в сочетании с безусловным подкреплением колебалась случайным образом и составляла от 15 до 30 с.

В работе использовали четырехдневную схему выработки УРАИ. Каждому животному предъявляли по 10 сочетаний условного и безусловного раздражителей в течение 4 дней обучения. Препарат вводили во все дни выработки УРАИ. В день проверки сохранения навыка препарат не вводили. Через неделю после последнего сеанса обучения животных тестировали для проверки сохранения выработанного навыка. Фиксировали следующие показатели: количество выполненных реакций (ВР), количество коротколатентных избавлений (КЛИ), количество межсигнальных реакций (МСР).

*Выработка условной пищедобывательной реакции на место.* Выработку условной пищедобывательной реакции на место проводили в так называемом сложном пищевом лабиринте (СПЛ). Экспериментальная установка представляла собой квадратную камеру (размер 60×60×25 см), разделенную пятью прозрачными перегородками на шесть коридоров. В каждой перегородке имелось прямоугольное отверстие. Перед экспериментом животных подвергали 24-часовой пищевой депривации, а затем адаптировали к условиям эксперимента. При этом крыс на 30 мин помещали в лабиринт с равномерно разбросанными по отсекам кусочками белого хлеба с целью погашения избыточной исследовательской реакции и снижения тревожности, а также формирования первичной ассоциации между условиями эксперимента и получением пищевого подкрепления. В последующие 4 дня животных помещали в лабиринт по 5 раз подряд ежедневно, причем длительность каждой посадки не превышала 3 мин. В качестве подкрепления использовали кусочки белого хлеба. В дни опыта животных кормили 1 раз в сутки непосредственно после эксперимента. Проверку сохранения выработанного навыка осуществляли через неделю после проведения последнего сеанса обучения.

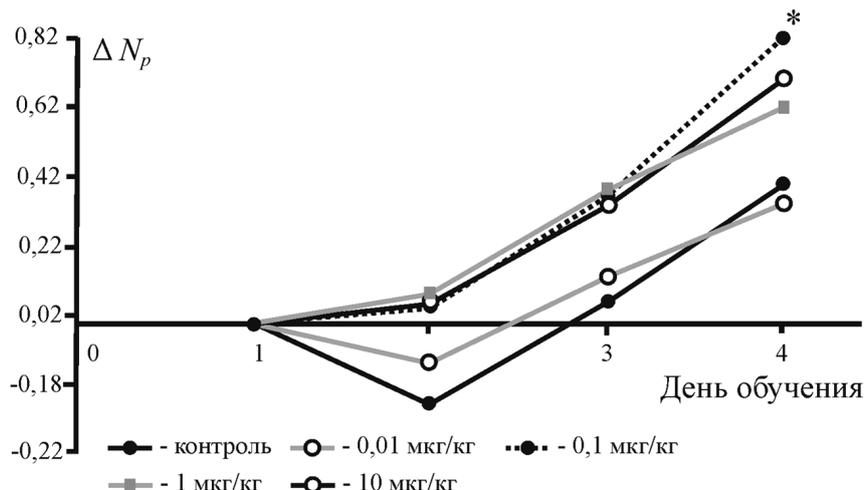


Рис. 1. Влияние интраназального введения Ас-D-SPRG на изменение  $\Delta N_p$  в процессе выработки условной пищедобывательной реакции на место в тесте СПЛ. \* – достоверные отличия от контроля ( $p < 0,05$ )

Fig. 1. Influence of the intranasal administration SPRG on the  $\Delta N_p$  change during the conditioned food-procuring reaction in the Complex food labyrinth test. \* – reliable differences from control ( $p < 0.05$ )

В процессе обучения крыс переносили в стартовый отсек (ближайший к экспериментатору коридор), после чего визуально регистрировали следующие показатели: латентный период выхода из первого коридора, время реакции, количество ВР, количество ошибок, количество умываний (груминг).

*Статистическая обработка результатов.* Для количественной оценки полученных экспериментальных данных применяли динамический показатель  $\Delta$  [14]. Достоверность различий оценивали с помощью критерия Манна–Уитни, используя пакет Statistica 8.0 (StatSoft Inc.).

**Результаты и их обсуждение.** *Влияние Ас-D-SPRG на выработку условной пищедобывательной реакции на место.* В тесте СПЛ количество необучившихся животных в опытных группах значимо не отличалось от их числа в контрольной группе.

Количество ошибок, совершаемых животными в процессе ВР, не различалось в контрольной и опытной группах на протяжении всего процесса обучения. При проверке сохранения навыка (11-й день после начала обучения) у крыс, получавших препарат в дозе 0,01 мкг/кг, количество ошибок было значимо снижено по сравнению с контролем.

Время ВР также не различалось у животных контрольной и опытной групп на протяжении всего процесса обучения, но при проверке сохранения навыка у крыс, получавших препарат в дозах 0,1 и 10 мкг/кг, этот показатель был значимо снижен по сравнению с контролем.

Среднее количество умываний у животных при проверке сохранения навыка было достоверно снижено у животных, получавших Ас-D-SPRG в дозах 0,1 и 1 мкг/кг, по сравнению с контрольной группой.

Динамический показатель  $\Delta N_p$  учитывает изменение количества ВР в процессе выработки условной пищедобывательной реакции на место в тесте СПЛ. Доля ВР в опытных группах на протяжении всего эксперимента в основном была выше контрольного уровня, однако значимых отличий  $\Delta N_p$  достигал только на 4-й день обучения и только при введении дозы 0,1 мкг/кг (рис. 1).

*Влияние Ас-D-SPRG на выработку условной реакции пассивного избегания.* Показателем выработки УРПИ является увеличение таких показателей, как латентный период захода в темный отсек камеры и разница между латентным периодом во время проверки выработки УРПИ и латентным периодом во время обучения, а также время пребывания в светлом отсеке камеры. Для крыс пребывание в светлом помещении является некомфортным, поэтому эти показатели могут служить критерием выработки условной реакции.

При тестировании выработки УРПИ (через 72 ч после обучения) латентный период захода в темный отсек камеры был увеличен при введении всех указанных доз Ас-D-SPRG, но оказался значимым только для дозы 10 мкг/кг (рис. 2, а).

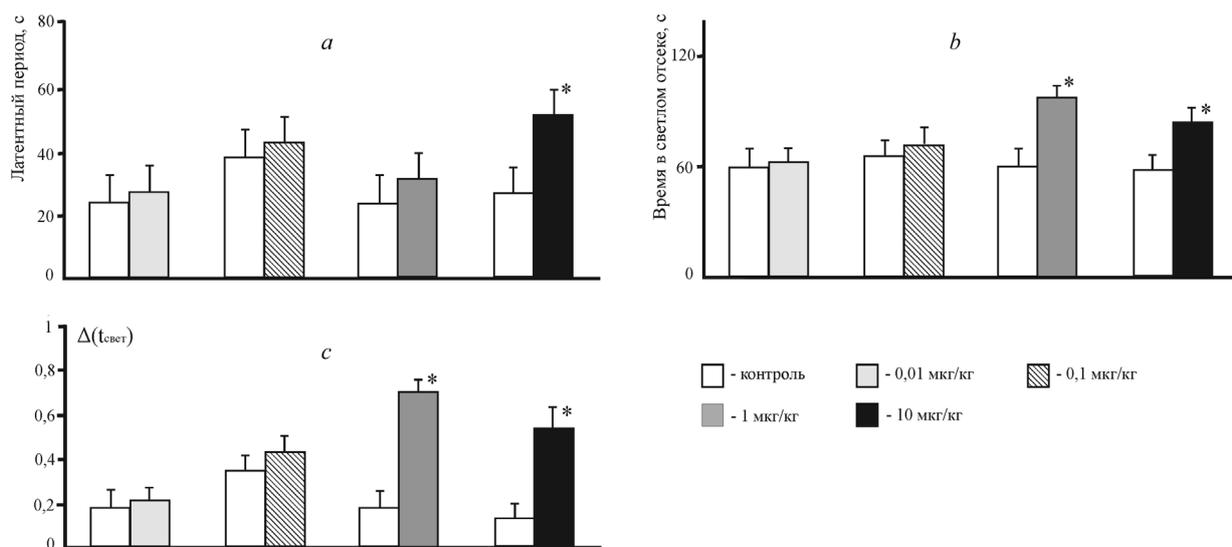


Рис. 2. Зависимость параметров теста выработки УРПИ от дозы: *a* – латентный период захода в темный отсек камеры; *b* – время нахождения животных в светлом отсеке камеры; *c* – динамический показатель  $\Delta t_{\text{свет}}$ . \* – достоверные отличия от контроля ( $p < 0,05$ )

Fig. 2. Dose dependence of the conditional reaction of passive avoidance test parameters: *a* – latent period of getting to a dark area of the chamber; *b* – residence time of animals in a light area of the chamber; *c* – dynamic index  $\Delta t_{\text{light}}$ . \* – reliable differences from control ( $p < 0.05$ )

Разница между латентным периодом во время проверки формирования УРПИ и латентным периодом во время обучения ( $\Delta LP = LP1 - LP2$ ) позволяет оценить, в какой степени нахождение в светлом отсеке камеры обусловлено выработкой условной реакции, а в каком – индивидуальными особенностями животного. В нашем случае увеличение разницы между латентными периодами зарегистрировано при введении всех указанных доз, но значимым оно было только для дозы 10 мкг/кг. Время нахождения животных в светлом отсеке камеры при тестировании выработки УРПИ (через 72 ч после обучения) возрастало при введении всех указанных доз аналога, но значимым оно было только для больших доз – 1 и 10 мкг/кг (рис. 2, *b*).

При выработке УРПИ Ас-D-SPRG оказывал положительное влияние на процесс обучения животных. Для дозы 10 мкг/кг оно было однозначным, так как проявлялось во всех показателях теста, и у крыс, получавших пептид, различия были статистически значимы по сравнению с контролем. При введении дозы 1 мкг/кг достоверным оказалось лишь увеличение времени нахождения животных в светлом отсеке камеры при тестировании выработки УРПИ, хотя другие параметры изменялись сонаправленно с ним. При введении Ас-D-SPRG в малых дозах значимых изменений параметров не зарегистрировано, однако их направленность была такой же, как и при введении больших доз.

Таким образом, Ас-D-SPRG в дозах 1 и 10 мкг/кг приводит к улучшению выработки УРПИ у крыс. Это подтверждает также анализ динамического показателя  $\Delta t_{\text{свет}}$ , который значимо возрастал в группах животных, получавших тетрапептид в больших дозах (рис. 2, *c*).

*Влияние тетрапептида на выработку условной реакции активного избегания.* В 1-й день исследований значимых различий между показателями животных экспериментальных и контрольной групп не выявлено. Со 2-го дня обучения обнаружилось, что под действием пептида число ВР возросло. Статистически значимым во 2-й день обучения этот рост был для животных, которым вводили Ас-D-SPRG в дозах 1 и 10 мкг/кг. На 3-й день обучения количество ВР достоверно увеличилось у животных, которым вводили Ас-D-SPRG в дозах 0,1 и 1 мкг/кг. К 4-му дню обучения количество ВР достоверно возросло во всех опытных группах. Через 11 дней после начала обучения зарегистрировано сохранение навыка во всех группах. Достоверное увеличение количества ВР наблюдалось только у животных, получавших препарат в дозе 0,01 мкг/кг. Введение препарата в указанных дозах практически не оказало влияния на количество КЛИ и МСР у животных опытных групп.

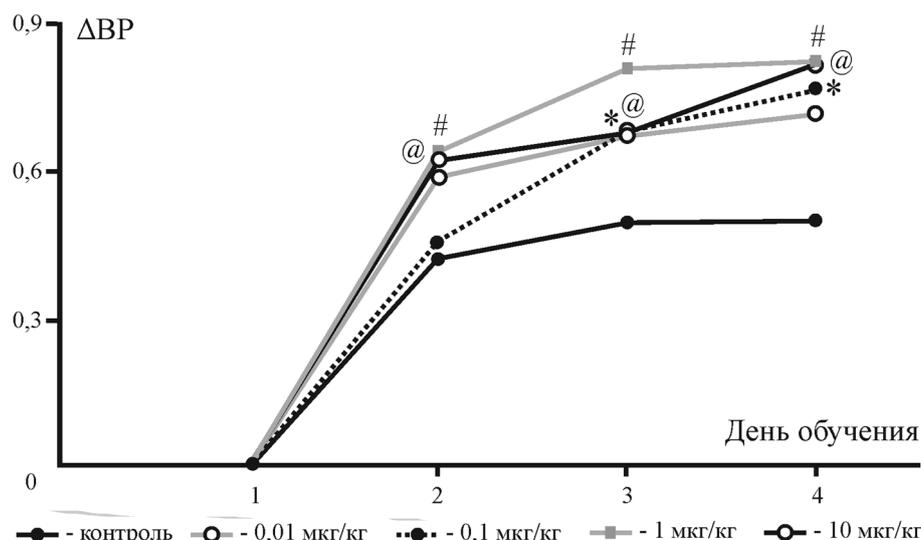


Рис. 3. Влияние интраназального введения Ас-D-SPRG на изменение ΔBP в процессе выработки УРАИ. Достоверные отличия от контроля ( $p < 0,05$ ): \* – для дозы 0,1 мкг/кг, # – для дозы 1 мкг/кг, @ – для дозы 10 мкг/кг

Fig. 3. Influence of the intranasal administration of Ac-D-SPRG on the ΔBP change during the conditional reaction of active avoidance process. Reliable differences from control ( $p < 0.05$ ): \* – dose of 0.1 μg/kg, # – dose of 1 μg/kg, @ – dose of 10 μg/kg

Использование динамического показателя ΔBP позволило не только учесть улучшение обучения под действием тетрапептида, но и оценить разницу в скорости обучения животных контрольной и опытных групп (рис. 3). Значимое увеличение ΔBP зарегистрировано на 3-й и 4-й дни обучения у животных, получавших Ас-D-SPRG в дозе 0,1 мкг/кг, и на 2, 3 и 4-й дни обучения у животных, получавших препарат в дозах 1 и 10 мкг/кг.

Таким образом, препарат в указанных дозах не только приводит к увеличению количества ВР, что улучшает обучение, но и ускоряет выработку навыка (рис. 3). Очевидно, что чем больше угол между кривой ΔBP и осью абсцисс, тем быстрее в данной группе достигаются большие значения показателя и больше скорость выработки условной реакции. Под действием Ас-D-SPRG животные экспериментальных групп не только достигают больших успехов в обучении, но и делают это быстрее.

Результаты проведенных экспериментов показывают, что Ас-D-SPRG оказывает положительное влияние на различные формы обучения животных, но степень выраженности этого влияния разная.

Данные по влиянию АВП на обучение с положительным подкреплением противоречивы. Так, имеются сведения о положительном влиянии АВП на сохранение и воспроизведение условных реакций с пищевым, питьевым и половым подкреплением [15]. Это может свидетельствовать о действии АВП на процессы обучения и памяти вне зависимости от того эмоционального фона, при котором оно реализуется, хотя механизмы данного влияния до сих пор не изучены. Показано, что АВП, введенный подкожно в дозах 1 и 5 мкг/кг массы тела, приводит к улучшению обучения с пищевым подкреплением в восьмилучевом лабиринте [16]. Однако другими исследователями получены сведения о том, что подкожное введение АВП в дозах 0,5 и 1 мкг/крысу нарушает выработку рефлекса с пищевым подкреплением [17].

При исследовании влияния АВП(4-9) на процессы памяти в радиальном лабиринте с пищевым подкреплением показано, что введение пептида как до, так и после сеанса обучения улучшает воспроизведение выработанного навыка. Выявлена зависимость между улучшением обучения, наблюдающимся при введении АВП(4-9) после сеанса обучения, и степенью обучаемости крыс. Введение этого пептида не оказывало влияния на выработку навыка у хорошо обучаемых животных, однако влияние на воспроизведение навыка сохранялось. Таким образом, можно предположить, что эффект родственных вазопрессину пептидов при их экзогенном введении зависит от степени обучаемости животных и условий проведения эксперимента [7].

Результаты экспериментов, проведенных ранее в нашей лаборатории [18], показали, что АВП в дозе 0,001 мг/кг при внутрибрюшинном введении не влияет на выработку условной пищедобывательной реакции на место в Т-образном лабиринте и СПЛ. Ас-D-MPRG при его интраназальном введении в дозах от 0,001 до 10 мкг/кг практически не оказывал влияния на параметры обучения крыс в Т-образном лабиринте [13].

Ас-D-SPRG оказывал некоторое положительное влияние на выработку условной пищедобывательной реакции на место в СПЛ, однако это влияние было достаточно неравномерным. Нельзя утверждать, что какая-либо из указанных доз была более эффективной, а кроме того, ни в одной из опытных групп не зарегистрировано значимых изменений одновременно всех параметров, связанных с формированием условной реакции. Было сделано заключение, что Ас-D-SPRG, так же как и сам АВП, и другой аналог АВП(6-9) – Ас-D-MPRG при интраназальном введении не оказывали значительного влияния на выработку условной пищедобывательной реакции на место.

Сведения литературы о влиянии АВП на выработку УРПИ довольно противоречивы. L. Gabor с соавт. [19] сообщают, что введение АВП на определенных этапах обучения улучшало выработку условной реакции пассивного избегания. Микроинъекция АВП в зубчатую извилину, дорзальные ядра прозрачной перегородки или ядра шва улучшала выработку УРПИ при введении пептида непосредственно после обучения [20]. Однако положительное влияние АВП на этот тип оборонительной реакции подтверждается не всеми авторами [21].

Есть основания полагать, что АВП и его фрагменты не только стимулируют запоминание при экзогенном введении, но и постоянно функционируют в головном мозге в качестве регуляторов процессов памяти. Крысы линии Brattleboro, у которых в результате мутации нарушен синтез АВП, способны к обучению в меньшей степени, чем животные с нормальным уровнем этого нейропептида: у них угнетается выработка и ускоряется гашение оборонительных реакций – например, УРПИ [22].

О непосредственном участии АВП в процессах обучения и памяти нет однозначных доказательств: многие группы исследователей утверждают, что поведенческие эффекты гормона на самом деле являются непрямым следствием его действия, модулирующего состояние arousal и эмоциональность [23]. Поскольку при выработке УРАИ и УРПИ используется отрицательное подкрепление, дифференцировать эти два компонента достаточно сложно. Выдвинута гипотеза о том, что между выполнением поставленной задачи и уровнем arousal наблюдается обратная U-образная зависимость. Так, небольшое увеличение уровня возбуждения может облегчать протекание процессов обучения и памяти, в то время как значительное его изменение может оказывать обратное действие [24].

По данным, полученным ранее в нашей лаборатории, внутрибрюшинное введение АВП в дозе 0,001 мг/кг несколько угнетает процесс выработки УРПИ [18].

Что касается фрагментов и аналогов АВП, то катионизированный аналог АВП(4-9) при подкожном введении в дозе 1,3 нмоль/кг за 1,5 ч до повторного тестирования и выработки УРПИ улучшает процесс формирования навыка [8]. De Wied [6] и другие авторы показали, что АВП(5-9), введенный перед повторным тестированием, оказывает влияние на процессы воспроизведения, так как приводит к облегчению воспроизведения УРПИ. Применение АВП(5-8) в малых дозах (8 нг) облегчает выработку УРПИ, при этом его введение сразу после обучения более эффективно, чем введение АВП [11].

Ас-D-SPRG при выработке УРПИ оказывал положительное влияние на обучение животных. Полученные результаты говорят о том, что бóльшие из использованных доз были более эффективны в данной модификации теста. Как указывалось выше, сам АВП несколько угнетает процесс выработки УРПИ, однако, основываясь на анализе полученных данных, А. Б. Усенко предположил, что этот эффект скорее всего связан с увеличением числа животных, совершающих при тестировании большее количество переходов из отсека в отсек, по сравнению с контролем. В результате возрастания числа переходов накапливалось время, проведенное в темном отсеке [18]. Изучаемый нами аналог не оказал влияния на количество переходов из отсека в отсек у животных опытных групп. Возможно, отсутствие этого эффекта по сравнению с АВП позволило заметить положительное влияние аналога на обучение в данном тесте. Несмотря на увеличение

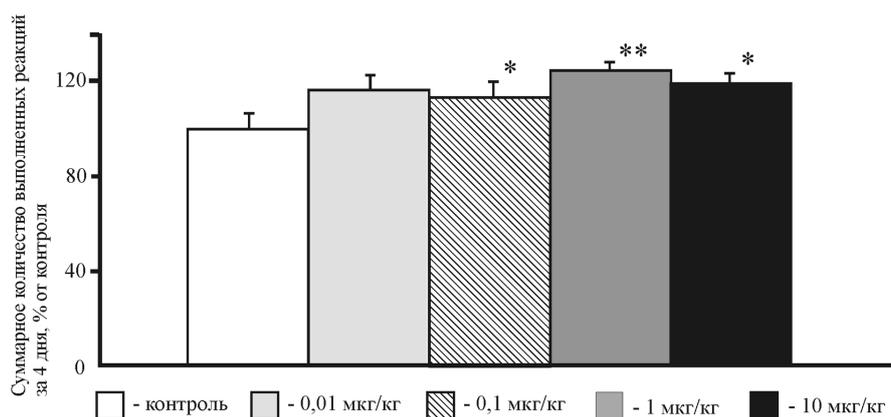


Рис. 4. Зависимость доза–эффект при интраназальном введении пептида Ac-D-SPRG за 5 мин до начала обучения в тесте УРАИ. Достоверные отличия от контроля: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$

Fig. 4. Dose dependence during the intranasal administration of Ac-D-SPRG within 5 minutes before training in the conditional reaction of active avoidance test. Reliable differences from control: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$

времени, проводимого животными, получавшими АВП, в темном отсеке камеры, этот период у них в день проверки выработки навыка был короче, чем в день обучения.

Инъекция АВП в заднеталамическую область или в гиппокампальные структуры [25] приводила к лучшему сохранению УРАИ. При этом хроническое введение АВП было более эффективным, чем однократное [26]. Внутривентрикулярное введение АВП в дозе 0,001 мг/кг ежедневно после сеанса обучения способствовало увеличению числа ВР при выработке УРАИ. Введение гормона в дозе 0,0001 мг/кг также приводило к ускорению выработки навыка активного избегания, однако эффект был выражен намного слабее. При интраназальном введении пептида в дозе 0,05 мг/кг сразу после сеанса обучения ускорялась выработка УРАИ, что выражалось в увеличении доли ВР в опытной группе начиная со 2-го дня обучения. Гормон не оказывал влияния на динамику коротколатентных извлечений и межсигнальных реакций [18].

Что касается фрагментов АВП, то интраназальное введение Ac-D-MPRG за 5 мин до сеанса обучения оказывало положительное влияние на процессы выработки УРАИ, а также способствовало сохранению выработанного навыка. Введение пептида в дозе 0,01 мкг/кг приводило к увеличению количества ВР у животных опытной группы, достоверно отличающееся от контроля во все дни обучения, начиная с 1-го дня обучения, а также к сохранению выработанного навыка. Количество коротколатентных извлечений и межсигнальных реакций у животных опытной группы достоверно не отличалось от таковых в контрольной группе [13].

На основании данных, полученных в тесте УРАИ при введении всех доз пептида, выявлена зависимость доза–эффект (рис. 4). По суммарному количеству выполненных реакций за 4 дня обучения кривая доза–эффект имела вид, близкий к колоколообразному, характерному для многих пептидов, в частности для природного прототипа аналога – АВП [27] и другого аналога АВП(6-9) – Ac-D-MPRG [13]. Наиболее эффективными оказались дозы 0,1, 1 и 10 мкг/кг. Доза 0,01 была менее эффективной (суммарное количество выполненных реакций за 4 дня обучения значимо не отличалось от контроля).

Исследуемый тетрапептид Ac-D-SPRG при его интраназальном введении оказывал сходное с Ac-D-MPRG влияние на выработку условной реакции активного избегания. Однако при введении всех указанных доз значимое увеличение количества ВР у животных опытной группы зарегистрировано только к 4-му дню обучения. Кроме того, при тестировании на сохранение навыка увеличение количества ВР было значимым лишь у животных, получавших препарат в дозе 0,01 мкг/кг.

Таким образом, исследуемый тетрапептид либо улучшает процесс обучения, либо не влияет на него. Действие Ac-D-SPRG, как и АВП и его других фрагментов и аналогов, проявляется в большей степени при обучении животных с отрицательным подкреплением [14].

На основании полученных результатов можно предположить, что стимулирующее действие пептида на процессы обучения зависит от характера вырабатываемого навыка и сигнала, запускающего выработку условной реакции. Для формирования связи между условным раздражителем и реакцией на него подкрепление должно быть биологически значимым.

Поведение животных определяется балансом ориентировочно-исследовательской, оборонительной и пищевой мотивации. При выработке условной пищедобывательной реакции на место доминирует пищевая мотивация, а пусковым сигналом служит сама экспериментальная обстановка. По литературным данным, сам АВП не влияет на пищевую мотивацию [28] либо способствует уменьшению потребления пищи [29, 30]. Как указывалось выше, данные о влиянии АВП на обучение с положительным подкреплением противоречивы. В отношении Ас-D-SPRG можно предположить, что он, как и АВП, практически не влияет на данный тип обучения. С одной стороны, пищевая мотивация не является достаточно биологически значимым стимулом для взрослых половозрелых самцов крыс, а с другой стороны, отсутствует конкретный условный раздражитель, с которым можно связать подкрепление.

Оборонительная мотивация, вероятно, более значима и в меньшей степени зависит от индивидуальных характеристик животных. В тесте УРПИ выявлено выраженное положительное влияние тетрапептида, особенно в больших дозах, на обучение. Возможно, разница в освещенности камер оказывается достаточно значимой для животного, чтоб оно восприняло ее как дифференцированный условный раздражитель. При таком сочетании биологически значимой мотивации и выраженности пускового сигнала Ас-D-SPRG в больших дозах улучшает обучение с отрицательным подкреплением.

Наиболее ярко положительный эффект Ас-D-SPRG на обучение проявлялся в тесте УРАИ. Следует отметить, что аналог практически не влияет на динамику изменения КЛИ, но увеличивает отношение числа избеганий к числу КЛИ. Это может свидетельствовать о том, что Ас-D-SPRG не оказывает существенного влияния на ориентацию в камере и на восприятие полки как способа избегания болевого раздражителя. Главный объект его действия – реакция на условный звуковой сигнал, т. е. аналог побуждает к действию в ответ на условный сигнал, возможно, усиливая внимание к последнему. Роль АВП в регуляции процессов селективного внимания подтверждается его тесной топографической и функциональной связью с хвостатым ядром, имеющим прямое отношение к механизмам внимания [31]. В связи с этим представляет большой интерес сообщение [32], что у крыс, лишенных эндогенного дофамина, способность к выработке условной реакции активного избегания коррелирует с содержанием АВП в хвостатом ядре, но не в гиппокампе, гипоталамусе и гипофизе. Имеются также сведения о том, что АВП не только способствует запоминанию необходимости реакции на внешние стимулы, но и, по-видимому, усиливает внимание к конкретным афферентным воздействиям. Так, по некоторым данным [14], АВП увеличивал интенсивность обнюхивания крысами конкретных объектов при сохранении или даже снижении уровня горизонтальной и вертикальной двигательной активности.

Обобщая изложенное выше, можно обозначить некоторую тенденцию: используемый аналог улучшает обучение животных тем сильнее, чем более конкретным, дифференцированным и обособленным является условный сигнал.

Известно, что вазопрессинергическая система подвержена сложной нервной и гормональной регуляции, в которой среди прочих компонентов участвует норадреналин. Имеются данные об облегчающем влиянии норадреналина на секрецию обоих гормонов задней доли гипофиза [33]. При стрессе секрецию АВП активирует норадреналин. Введение АВП ведет к накоплению норадреналина в гипоталамусе, таламусе и продолговатом мозге вследствие пресинаптического торможения медиации норадреналина. Таким образом, между АВП и норадреналином существует положительная обратная связь [34]. Результаты иммуноцитохимических и функциональных исследований свидетельствуют в пользу тесного взаимодействия нейрогипофизарных гормонов и катехоламинергической системы в регуляции вегетативных и поведенческих реакций. Поскольку катехоламины участвуют в регуляции неспецифических механизмов памяти, реакции активации, оценки значимости стимула и силы подкрепления [35], можно предположить, что активация катехоламинер-

гической системы может оказывать влияние на модификацию процессов обучения под действием АВП и его аналогов.

Важно, что стимулирующее действие АВП на скорость выработки условной реакции активного избегания сохраняется на фоне различного рода дисфункций системы биогенных аминов [36]. Многие исследователи считают, что действие АВП на процессы обучения и память является опосредованным и реализуется через систему катехоламинов [19, 37]. Информация о том, что положительное влияние АВП на обучение на фоне дисфункции катехоламинергической системы сохраняется, указывает, скорее всего, не на опосредованность действия, а на взаимовлияние вазопрессин- и катехоламинергической систем в регуляции сложных форм поведения. Вероятно, вазопрессинергическая система и система биогенных аминов являются самостоятельными, взаимодополняющими регуляторами центральных процессов, вовлекаемых в реализацию приобретенных форм поведения.

Из трех использованных тестов СПЛ, очевидно, наименее стрессогенный и меньше других влияет на эмоциональное состояние животных, далее по нарастающей располагаются УРПИ и УРАИ. Не исключено, что стресс во время эксперимента приводит к активации системы биогенных аминов, влияние которой в дальнейшем потенцирует вазопрессинергическую систему. В свою очередь введение экзогенных пептидов может изменять состояние обеих систем, приводя к соответствующим эффектам.

**Заключение.** В результате проведенной работы показано, что Ас-D-SPRG, новый синтетический аналог фрагмента АВП, оказывает существенное влияние на обучение животных с отрицательным подкреплением при выработке условных реакций активного и пассивного избегания болевого раздражителя. Значимого эффекта в тесте «сложный пищевой лабиринт» (положительное подкрепление) не зарегистрировано. Изученный аналог может быть рассмотрен как кандидат для разработки лекарственных препаратов ноотропного действия.

#### Список использованных источников

1. De Wied, D. The influence of the posterior and intermediate lobe of the pituitary and pituitary peptides on the maintenance of a conditioned avoidance response in rats / D. de Wied // *Int. J. Neuropharmacol.* – 1965. – Vol. 4. – P. 157–167.
2. De Wied, D. Behavioral effects of intraventricularly administered vasopressin and vasopressin fragments / D. de Wied // *Life Sci.* – 1976. – Vol. 19, N 5. – P. 685–690.
3. De Wied, D. Central actions of neurohypophysial hormones / D. de Wied // *Prog. Brain Res.* – 1983. – Vol. 60. – P. 155–167.
4. A major metabolite of arginine vasopressin in the brain is a highly potent neuropeptide / J. P. Burbach [et al.] // *Science.* – 1983. – Vol. 221. – P. 1310–1312.
5. Delayed effect of vasopressin metabolite AVP(4-8) on the social memory of sexually naive rats / L. G. Reijmers [et al.] // *Psychopharmacology.* – 2001. – Vol. 154. – P. 408–414.
6. Structure activity relationship studies with C-terminal fragments of vasopressin and oxytocin on avoidance behaviors of rats / D. de Wied [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1987. – Vol. 241. – P. 268–274.
7. Strupp, B. J. Enhancement and impairment of memory retrieval by a vasopressin metabolite: an interaction with the accessibility of memory / B. J. Strupp, M. Bunsey // *Behav. Neurosci.* – 1990. – Vol. 104. – P. 268–276.
8. Tanabe, S. Facilitation of passive avoidance response by newly synthesized cationized arginine vasopressin fragment 4–9 in rats / S. Tanabe, Y. Shishido // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 1997. – Vol. 57. – P. 251–256.
9. Role of p38 mitogen-activated protein kinase on renal dysfunction after hemorrhagic shock in rats / H. Sato [et al.] // *Shock.* – 2005. – Vol. 24. – P. 488–494.
10. NC-1900, an arginine-vasopressin analogue, ameliorate social behavior deficits and hyperlocomotion in MK-801-treated rats: therapeutic implications for schizophrenia / T. Matsuoka [et al.] // *Brain Res.* – 2005. – Vol. 1053. – P. 131–136.
11. Kovacs, G. L. Peptidergic modulation of learning and memory processes / G. L. Kovacs, D. de Wied // *Pharmacol. Rev.* – 1994. – Vol. 46. – P. 269–291.
12. Голубович, В. П. Синтез и биологическая активность С-концевых фрагментов вазопрессина / В. П. Голубович, В. П. Мартинович // *Химико-фармацевт. журн.* – 1988. – Т. 22, № 6. – С. 675–679.
13. Улучшение селективного восприятия и обучения крыс оригинальным аналогом С-концевого фрагмента вазопрессина / Н. С. Пономарева [и др.] // *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.* – 1998. – Т. 84, № 12. – С. 1363–1369.
14. Титов, С. А. Оценка действия аргинин-вазопрессина на формирование условной реакции активного избегания у крыс / С. А. Титов, А. Б. Никонова // *Журн. высш. нерв. деятельности им. И. П. Павлова.* – 1987. – Т. 37, вып. 5. – С. 922–927.
15. Alescio, B. Arginine-vasopressin on retention and forgetting in appetitive tasks / B. Alescio, F. Roman, B. Soumireu-Mourat // *Behav. Brain Res.* – 1985. – Vol. 16. – P. 185–237.

16. Packard, M. G. Effects of peripherally injected vasopressin and desglycinamide vasopressin on the extinction of a spatial learning task in rats / M. G. Packard, A. Ettenberg // *Regul. Peptides*. – 1985. – Vol. 11. – P. 51–63.
17. Andrews, J. S. The effects of vasopressin on positively rewarded responding and on locomotor activity in rats / J. S. Andrews, B. A. Newton, A. Sahgal // *Neuropeptides*. – 1983. – Vol. 4. – P. 17–19.
18. Усенко, А. Б. Характеристика действия вазопресси́на и его фрагментов на поведение белых крыс : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.03.01 / А. Б. Усенко ; Москов. гос. ун-т им. М. В. Ломоносова. – М., 1987. – 28 с.
19. Facilitation of memory consolidation by vasopressin: mediation by terminals of the dorsal noradrenergic bundle / L. Gabor [et al.] // *Brain Res.* – 1979. – Vol. 172. – P. 73–85.
20. Effect of oxytocin and vasopressin on memory consolidation: sites of action and catecholaminergic correlates after local microinjection into limbic-midbrain structures / G. L. Kovacs [et al.] // *Brain Res.* – 1979. – Vol. 175. – P. 303–314.
21. Sahgal, A. Comparison of the effects of vasopressin and oxytocin with amphetamine and chlordiazepoxide on passive avoidance behavior in rats / A. Sahgal, C. A. Wright // *Psychopharmacology*. – 1983. – Vol. 80. – P. 88–92.
22. Bohus, B. Behavioral and endocrine responses of rats with hereditary hypothalamic diabetes insipidus (Brattleboro strain) / B. Bohus, G. T. B. van Wimersma, D. de Wied // *Physiol. Behav.* – 1975. – Vol. 14. – P. 609–615.
23. Dantzer, R. Vasopressin, gonadal steroids and social recognition / R. Dantzer // *Prog. Brain Res.* – 1998. – Vol. 119. – P. 409–414.
24. Dawson, G. R. Pharmacological mechanisms and animal models of cognition / G. R. Dawson, C. M. Heyes, S. D. Iversen // *Behav. Pharmacol.* – 1992. – Vol. 3. – P. 285–297.
25. *In vivo* conversion of vasopressin after microinjection into limbic brain areas of rats / H. Stark [et al.] // *Peptides*. – 1989. – Vol. 10. – P. 717–720.
26. Hamburger-Bar, R. The effect of chronic vs. acute injection of vasopressin on animal learning and memory / R. Hamburger-Bar, A. Klein, R. H. Belmaker // *Peptides*. – 1985. – Vol. 6. – P. 23–26.
27. Ашмарин, И. П. Регуляторные пептиды, функционально-непрерывная совокупность / И. П. Ашмарин, М. Ф. Обухова // *Биохимия*. – 1986. – Т. 51. – С. 963–967.
28. Gulati, K. Effects of acute and chronic ketocyclazocine and its modulation by oxytocin or vasopressin on food intake in rats / K. Gulati, A. Ray, K. K. Sharma // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 1992. – Vol. 41. – P. 7–12.
29. Rossi, R. Vasopressin inhibits food intake in pygmy goats by activation of alpha 1-adrenergic receptors / R. Rossi, E. Scharer // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 1994. – Vol. 49. – P. 897–900.
30. Bray, G. A. Nutrient intake is modulated by peripheral peptide administration / G. A. Bray // *Obes. Res. Clin. Pract.* – 1995. – Vol. 3. – P. 569–572.
31. Hamburger-Bar, R. Vasopressin effect on learning in 6-hydroxydopamine-pretreated rats: correlation with caudate vasopressin levels / R. Hamburger-Bar, R. P. Ebstein, R. H. Belmaker // *Biol. Psychiat.* – 1984. – Vol. 19. – P. 735–743.
32. Histaminergic and catecholaminergic interactions in the central regulation of vasopressin and oxytocin secretion / U. Knigge [et al.] // *Endocrinology*. – 1999. – Vol. 140. – P. 3713–3719.
33. Чернышева, М. П. Гормоны животных: введение в физиологическую эндокринологию : учеб. пособие / М. П. Чернышева. – СПб. : Глагол, 1995. – 296 с.
34. Gramling, S. E. Effects of neuroleptics on rate and duration of operant versus reflexive licking in rats / S. E. Gramling, S. C. Fowler // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 1985. – Vol. 22. – P. 541–545.
35. Титов, С. А. Влияние вазопресси́на на изменения поведенческих реакций у крыс, вызванные психотропными веществами / С. А. Титов, А. Б. Усенко, И. П. Ашмарин // *Журн. высш. нерв. деятельности деятельности им. И. П. Павлова*. – 1989. – Т. 39, № 2. – С. 292–295.
36. Burns, B. D. Pretreatment with propranol blocks the effect of arginine vasopressin upon the cerebral cortex of rats anaesthetized with urethane / B. D. Burns, I. S. Ebenezer, A. C. Webb // *J. Physiol.* – 1984. – Vol. 350. – P. 35.

## References

1. De Wied D. The influence of the posterior and intermediate lobe of the pituitary and pituitary peptides on the maintenance of a conditioned avoidance response in rats. *International Journal of Neuropharmacology*, 1965, vol. 4, pp. 157–167.
2. De Wied D. Behavioral effects of intraventricularly administered vasopressin and vasopressin fragments. *Life Sciences*, 1976, vol. 19, no. 5, pp. 685–690.
3. De Wied D. Central actions of neurohypophysial hormones. *Progress in Brain Research*, 1983, vol. 60, pp. 155–167. doi: 10.1016/S0079-6123(08)64383-6.
4. Burbach J. P., Kovacs G. L., de Wied D., van Nispen J. W., Greven H. M. A major metabolite of arginine vasopressin in the brain is a highly potent neuropeptide. *Science*, 1983, vol. 221, pp. 1310–1312.
5. Reijmers L. G., Baars A. M. Burbach, J. P., Spruijt B. M., van Ree J. M. Delayed effect of vasopressin metabolite AVP(4-8) on the social memory of sexually naive rats. *Psychopharmacology*, 2001, vol. 154, pp. 408–414.
6. De Wied D., Gaffori O., Burbach J. P., Kovacs G. L., van Ree J. M. Structure activity relationship studies with C-terminal fragments of vasopressin and oxytocin on avoidance behaviors of rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1987, vol. 241, no. 1, pp. 268–274.
7. Strupp B. J., Bunsey M. Enhancement and impairment of memory retrieval by a vasopressin metabolite: an interaction with the accessibility of memory. *Behavioral Neuroscience*, 1990, vol. 104, pp. 268–276.
8. Tanabe S., Shishido Y. Facilitation of passive avoidance response by newly synthesized cationized arginine vasopressin fragment 4–9 in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1997, vol. 57, pp. 251–256.

9. Sato H., Tanaka T., Kasai K., Kita T., Tanaka N. Role of p38 mitogen-activated protein kinase on renal dysfunction after hemorrhagic shock in rats. *Shock*, 2005, vol. 24, pp. 488–494.
10. Matsuoka T., Sumiyoshi T., Tanaka K., Tsunoda M., Uehara T., Itoh H., Kurachi M. NC-1900, an arginine-vasopressin analogue, ameliorates social behavior deficits and hyperlocomotion in MK-801-treated rats: therapeutic implications for schizophrenia. *Brain Research*, 2005, vol. 1053, pp. 131–136.
11. Kovacs G. L., De Wied D. Peptidergic modulation of learning and memory processes. *Pharmacological Reviews*, 1994, vol. 46, pp. 269–291.
12. Golubovich V. P., Martinovich V. P. Synthesis and biological activity of C-terminal fragments of vasopressin. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal* [Chemical and Pharmaceutical Journal], 1988, vol. 22, no. 6, pp. 675–679. (in Russian).
13. Ponomareva N. S., Voskresenskaia O. G., Kamenskii A. A., Golubovich V. P., Ashmarin I. P. Improvement of selective perception and training of rats by original analogue of C-terminal fragment of vasopressin. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal imeni I. M. Sechenova* [The Russian Physiological Journal named after I. M. Sechenov], 1998, vol. 84, no. 12, pp. 1363–1369. (in Russian).
14. Titov S. A., Nikonova A. B. Evaluation of action of arginine-vasopressin on formation of conditioned reaction of active avoidance in rats. *Zhurnal vysshei nervnoi deiatel'nosti imeni I. P. Pavlova* [Journal of Higher Neural Activity named after I. P. Pavlov], 1987, vol. 37, release 5, pp. 922–927. (in Russian).
15. Alescio B., Roman F., Soumireu-Mourat B. Arginine-vasopressin on retention and forgetting in appetitive tasks. *Behavioral Brain Research*, 1985, vol. 16, pp. 185–237.
16. Packard M. G., Ettenberg A. Effects of peripherally injected vasopressin and desglycinamide vasopressin on the extinction of a spatial learning task in rats. *Regulatory Peptides*, 1985, vol. 11, pp. 51–63.
17. Andrews J. S., Newton B. A., Sahgal A. The effects of vasopressin on positively rewarded responding and on locomotor activity in rats. *Neuropeptides*, 1983, vol. 4, pp. 17–19.
18. Usenko A. B. *Characterization of effect of vasopressin and its fragments on behavior of white rats*, Abstract of Ph. D. dissertation, Animal and Human Physiology, M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, 1987. 144 p. (in Russian).
19. Gabor L., Kovacs G. L., Bohus B., Versteeg H. G. Facilitation of memory consolidation by vasopressin: mediation by terminals of the dorsal noradrenergic bundle. *Brain Research*, 1979, vol. 172, pp. 73–85.
20. Kovacs G. L., Bohus B., Versteeg D. H., de Kloet E. R., de Wied D. Effect of oxytocin and vasopressin on memory consolidation: sites of action and catecholaminergic correlates after local microinjection into limbic-midbrain structures. *Brain Research*, 1979, vol. 175, pp. 303–314.
21. Sahgal A., Wright C. A. Comparison of the effects of vasopressin and oxytocin with amphetamine and chlordiazepoxide on passive avoidance behavior in rats. *Psychopharmacology*, 1983, vol. 80, pp. 88–92.
22. Bohus B., Van Wimersma, G. T. B., De Wied D. Behavioral and endocrine responses of rats with hereditary hypothalamic diabetes insipidus (Brattleboro strain). *Physiology and Behavior*, 1975, vol. 14, pp. 609–615.
23. Dantzer R. Vasopressin, gonadal steroids and social recognition. *Progress in Brain Research*, 1998, vol. 119, pp. 409–414.
24. Dawson G. R., Heyes C. M., Iversen S. D. Pharmacological mechanisms and animal models of cognition. *Behavioural Pharmacology*, 1992, vol. 3, pp. 285–297.
25. Stark H., Burbach J. P. H., Van der Kleij A. A. M., De Wied D. In vivo conversion of vasopressin after microinjection into limbic brain areas of rats. *Peptides*, 1989, vol. 10, pp. 717–720.
26. Hamburger-Bar R., Klein A., Belmaker R. H. The effect of chronic vs. acute injection of vasopressin on animal learning and memory. *Peptides*, 1985, vol. 6, pp. 23–26.
27. Ashmarin I. P., Obukhova M. F. Regulatory peptides, as a functionally continuous integrity. *Biokhimiia* [Biochemistry], 1986, vol. 51, pp. 963–967. (in Russian).
28. Gulati K., Ray A., Sharma K. K. Effects of acute and chronic ketoacylazocine and its modulation by oxytocin or vasopressin on food intake in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1992, vol. 41, pp. 7–12.
29. Rossi R., Scharrer E. Vasopressin inhibits food intake in pygmy goats by activation of alpha 1-adrenergic receptors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1994, vol. 49, pp. 897–900.
30. Bray G. A. Nutrient intake is modulated by peripheral peptide administration. *Obesity Research and Clinical Practice*, 1995, vol. 3, pp. 569–572.
31. Hamburger-Bar R., Ebstein R. P., Belmaker R. H. Vasopressin effect on learning in 6-hydroxydopamine-pretreated rats: correlation with caudate vasopressin levels. *Biological Psychiatry*, 1984, vol. 19, pp. 735–743.
32. Knigge U., Willems E., Kjaer A., Jorgensen H., Warberg J. Histaminergic and catecholaminergic interactions in the central regulation of vasopressin and oxytocin secretion. *Endocrinology*, 1999, vol. 140, pp. 3713–3719.
33. Chernysheva, M. P. *Animal hormones: introduction to physiological endocrinology*. Saint Petersburg, Glagol, 1995, 296 p. (in Russian).
34. Gramling S. E., Fowler S. C. Effects of neuroleptics on rate and duration of operant versus reflexive licking in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1985, vol. 22, pp. 541–545.
35. Titov S. A., Usenko A. B., Ashmarin I. P. Effect of vasopressin on alterations of behavioral reactions in rats caused by psychotropic drugs. *Zhurnal vysshei nervnoi deiatel'nosti imeni I. P. Pavlova* [Journal of Higher Neural Activity named after I. P. Pavlov], 1989, vol. 39, no. 2, pp. 292–295. (in Russian).
36. Burns B. D., Ebenezer I. S., Webb A. C. Pretreatment with propranolol blocks the effect of arginine vasopressin upon the cerebral cortex of rats anaesthetized with urethane. *Journal of Physiology*, 1984, vol. 350, p. 35.

### Информация об авторах

*Белякова Александра Сергеевна* – инженер-лаборант. Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова (Ленинские горы, д. 1, стр. 12, 119234, г. Москва, Российская Федерация). E-mail: alixletter@yandex.ru.

*Синюшин Андрей Андреевич* – канд. биол. наук, доцент. Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова (Ленинские горы, д. 1, стр. 12, 119234, г. Москва, Российская Федерация). E-mail: asinjushin@mail.ru.

*Воскресенская Ольга Георгиевна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова (Ленинские горы, д. 1, стр. 12, 119234, г. Москва, Российская Федерация). E-mail: voskresenskaya05@mail.ru.

*Голубович Владимир Петрович* – д-р хим. наук, профессор. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: golubovich@iboch.bas-net.by.

*Каменский Андрей Александрович* – д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой. Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова (Ленинские горы, д. 1, стр. 12, 119234, г. Москва, Российская Федерация).

### Для цитирования

Влияние синтетического аналога фрагмента аргинин-вазопрессина на процесс обучения крыс / А. С. Белякова [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 2. – С. 104–116.

### Information about the authors

*Belyakova Alexandra Sergeevna* – Engineer. M. V. Lomonosov Moscow State University (1-12, Leninskie gory, 119234, Moscow, Russian Federation). E-mail: alixletter@yandex.ru.

*Sinjushin Andrey Andreyevich* – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor. M. V. Lomonosov Moscow State University (1-12, Leninskie gory, 119234, Moscow, Russian Federation). E-mail: asinjushin@mail.ru.

*Voskresenskaya Olga Georgiyevna* – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. M. V. Lomonosov Moscow State University (1-12, Leninskie gory, 119234, Moscow, Russian Federation). E-mail: voskresenskaya05@mail.ru.

*Golubovich Vladimir Petrovich* – D. Sc. (Chem.), Professor. Institute of Bioorganical Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus (5/2, Akademika Kuprevicha Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: golubovich@iboch.bas-net.by.

*Kamensky Andrey Alexandrovich* – D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. M. V. Lomonosov Moscow State University, Biological Faculty (Leninskie gory, 1-12, 119234, Moscow, Russian Federation).

### For citation

Belyakova A. S., Sinjushin A. A., Voskresenskaya O. G., Golubovich V. P., Kamensky A. A. Influence of synthetic analog of the arginine-vasopressin fragment on rats training. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2017, no. 2, pp. 104–116.

**К. В. Вилькицкая<sup>1</sup>, Н. И. Полякова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

<sup>2</sup>*Минская областная стоматологическая поликлиника, Минск, Республика Беларусь*

### **РИСКИ РАЗВИТИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ РАДИКАЛЬНОГО ОПЕРАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНОЙ ПАЗУХИ ОДОНТОГЕННОЙ ЭТИОЛОГИИ**

Оценена возможность использования субъективных методов, являющихся неотъемлемой частью диагностики заболеваний челюстно-лицевой области, у пациентов хирургического профиля. При опросе пациентов после оперативного лечения хронического одонтогенного синусита верхнечелюстной пазухи (ВЧП) по методике Калдуэлл–Люка в отдаленные сроки наблюдения использовали три анкеты: индекс «Профиль влияния стоматологического здоровья» ОНIP-49 (G. Slade, J. Spenser, 1994), опросник прогнозирования развития осложнений одонтогенного гайморита (Г. А. Побережник, 2014) и разработанную нами анкету. Кроме того, обследование включало сбор жалоб и анамнеза жизни и заболевания, клиническая часть состояла из внешнего осмотра и осмотра полости рта, дополнительно анализировали данные лучевых методов исследования.

После проведенного радикального хирургического лечения хронического одонтогенного синусита ВЧП наблюдалось снижение качества жизни пациентов в среднем на 24 %. Высокий риск развития осложнений заболевания, согласно методу, предложенному Г. А. Побережник, установлен в 82,5 % наблюдений. При анализе данных разработанной нами анкеты, основанной на учете как субъективных, так и объективных критериев, риск развития патологического процесса в пазухе верхней челюсти выявлен у 47,5 % пациентов, легкие функциональные нарушения – у 27,5 %, средние – у 12,5 %. Предложенный способ коррелировал с полученными клиническими результатами.

Таким образом, анкетирование в сочетании с данными объективного обследования является информативным методом, который может быть использован у пациентов с заболеваниями ВЧП одонтогенной этиологии для динамического наблюдения в послеоперационном периоде и своевременного выявления риска повторного развития заболевания.

*Ключевые слова:* верхнечелюстная пазуха, радикальная операция, анкетирование, качество жизни, рецидив заболевания.

**K. V. Vilkitskaya<sup>1</sup>, N. I. Poliakova<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

<sup>2</sup>*Minsk Regional Dental Clinic, Minsk, Republic of Belarus*

### **RISK ASSESSMENT OF COMPLICATIONS AFTER RADICAL OPERATIVE THERAPY OF CHRONIC MAXILLARY SINUS DISEASES OF THE ODONTOGENIC ORIGIN**

Diagnosis of maxillofacial area diseases is based on the use of subjective and objective research methods. In particular, the history of diseases of the maxillary sinus of the odontogenic origin is important at the stage of differential diagnosis.

The aim of the study was to investigate the possibility of applying a subjective assessment of the condition of patients after a radical surgical treatment of odontogenic diseases of the maxillary sinus on the basis of various questionnaires: the index “Profile of the influence of dental health” ОНIP-49 (G. Slade, J. Spenser, 1994), a questionnaire prediction development of complications of odontogenic sinusitis (G.A. Poberezhnik, 2014) and the questionnaire developed by us.

The long-term results of a radical operation on the maxillary sinus using the Caldwell–Luke method indicated that 70 % of the examined patients had no improvement after two years or more. There were complaints typical of the clinical picture of exacerbation of chronic odontogenic sinusitis, in particular, one-sided stuffiness of the nose with serous or purulent discharge, a feeling of heaviness and discomfort, a pain in the projection of the sinus of the upper jaw. The index of ОНIP-49 revealed a decrease in the life quality on average by 24 %, but this method is not specific for surgical pathology of the maxillofacial area. When predicting the development of complications of odontogenic sinusitis using a questionnaire of G.A. Poberezhnik, a high risk of recurrence is established in 82.5 % of cases. According to the questionnaire developed by us, the risk of developing the disease was revealed in 47.5 % of studies, minor functional abnormalities were detected in 27.5 % of patients, mean – in 12.5 %. The proposed method of subjective examination of patients with chronic odontogenic pathological processes of the maxillary sinus is more sensitive and allows obtaining predictive results. Questioning as a way of getting additional information in combination with clinical examination data allows one to identify patients at risk of recurrence of maxillary sinus diseases of the odontogenic origin at the stages of examination and dynamic observation after treatment.

*Keywords:* maxillary sinus, radical operation, questionnaire, life quality, relapse.

**Введение.** Анатомо-топографические особенности строения синуса верхней челюсти, такие как степень его пневматизации, соотношение дна анатомического образования с верхушками корневой боковой группы зубов верхней челюсти, зачастую являются одними из предрасполагающих факторов в развитии хронических воспалительных процессов одонтогенного генеза [1, 2]. Вопросы диагностики данной группы заболеваний, как и определения тактики лечения пациентов, в настоящее время до конца не решены [3], так как осложнения, развивающиеся после оперативного лечения заболеваний верхнечелюстной пазухи (ВЧП) по методике Калдуэлла–Люка, наиболее часто используемой в челюстно-лицевой хирургии, достигают 80 % [4, 5]. Для динамического наблюдения и оценки отдаленных результатов проведенных лечебно-реабилитационных мероприятий широко используются как объективные, так и субъективные методы исследования, в частности специализированные опросники [6], что обосновывает актуальность исследования.

Цель работы – оценить возможность использования субъективных методов обследования для определения риска развития осложнений после радикального оперативного лечения хронических одонтогенных заболеваний верхнечелюстной пазухи и провести их сравнительный анализ.

**Материалы и методы исследования.** На базе отделения челюстно-лицевой хирургии УЗ «9-я городская клиническая больница» и УЗ «11-я городская клиническая больница» г. Минска пациентам с диагнозом хронический одонтогенный синусит ВЧП (J32.0 по МКБ-10) в плановом порядке выполнялась радикальная операция по методике Калдуэлла–Люка. Проведен ретроспективный анализ медицинских карт госпитализированных в период с 2005 по 2014 г., после чего была сформирована группа из 40 человек (10 (25 %) мужчин и 30 (75 %) женщин) для оценки результатов комплексного лечения.

Субъективные методы обследования включали сбор жалоб, анамнеза жизни и заболевания, а также использование следующих анкет-опросников:

1) русскоязычной версии индекса «Профиль влияния стоматологического здоровья» ОНП-49 (G. Slade, J. Spenser, 1994), на основании которого уровень ухудшения качества жизни (КЖ) рассчитывается в процентах и сравнивается с гипотетической нормой –  $24,1 \pm 3,2$  балла [7];

2) опросника прогнозирования развития осложнений одонтогенного гайморита, включающего 28 вопросов, согласно которым на основании суммы прогностических коэффициентов определяется три группы риска – минимальный, неопределенный и высокий [6];

3) разработанной анкеты, состоящей из 21 вопроса, разделенных на три блока, позволяющих проанализировать данные анамнеза, оценить выраженность болевого синдрома и клиническую картину заболевания при их наличии. Предложенный нами метод учитывает длительность течения патологического процесса и частоту его обострений, характерные клинические проявления заболевания, а именно наличие заложенности носа и отделяемого, нарушение обоняния, позволяет объективизировать варианты применяемого медикаментозного и хирургического лечения, оценить характер боли, ее локализацию и интенсивность, а также частоту развития в течение суток и возможные триггеры. Ответы кодируются баллами от 0 до 3, а полученные результаты интерпретируются следующим образом: нормальные; риск развития заболевания; легкое, среднее или тяжелое нарушение функции.

Объективное обследование состояло из внешнего осмотра и осмотра полости рта. Дополнительно на контрольных компьютерных или конусно-лучевых компьютерных томограммах 8 пациентов после радикальной операции определяли индекс степени тяжести хронического одонтогенного синусита (ИСТ ХОС) (И. О. Походенько-Чудакова, К. В. Вилькицкая, Н. И. Полякова, 2016).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0 с применением коэффициента ранговой корреляции Кендалла ( $\tau$ ).

**Результаты и их обсуждение.** По прошествии 2 и более лет после оперативного лечения заболеваний ВЧП у 5 (12,5 %) пациентов отмечали полное выздоровление, 7 (17,5 %) обследованных предъявляли жалобы на двухстороннюю заложенность и отделяемое из полости носа слизистого характера, которые появлялись 1–2 раза в год. У 28 (70 %) человек не отмечалось улучшения после проведенного лечения в связи с наличием следующих симптомов: односторонней заложенности носа с гнойным отделяемым, тянущей болью и чувством дискомфорта в области оперированной ВЧП, нарушением температурной и тактильной чувствительности, затруднением дыхания.

При внешнем осмотре у всех обследованных изменения конфигурации лица и цвета кожных покровов не обнаружено. Методом контактной термометрии в накожной проекции акупунктурных точек, расположенных в проекции ВЧП, у 32 (80 %) пациентов выявлена температурная асимметрия. У 22 (55 %) обследуемых определялось нарушение чувствительности кожных покровов лица в области синуса верхней челюсти на заинтересованной стороне (И. О. Походенько-Чудакова, К. В. Вилькицкая, Н. И. Полякова, 2016).

Снижение КЖ составило в среднем 24 % в соответствии с индексом ОНП-49, что указывает на невысокую его чувствительность и недостаточную специфичность включенных вопросов для оценки заболеваний хирургического профиля, так как у пациентов с хроническим одонтогенным синуситом верхнечелюстной пазухи или рецидивом после проведенного лечения определяется нарушение ряда функций, таких как дыхание и жевание (нарушение последней – следствие частичной вторичной адентии после удаления «причинных» в развитии патологического процесса зубов). Данный метод коррелировал с индексом КПУ зубов ( $p < 0,05$ ).

Минимальный риск развития осложнений одонтогенного синусита по способу, предложенному Г. А. Побережником, выявлен у 1 (2,5 %) человека, неопределенный – у 6 (15 %), а у 33 (82,5 %) пациентов отмечена высокая вероятность развития рецидива заболевания ВЧП. Данный способ, разработанный для субъективного обследования при заболеваниях синуса верхней челюсти, прост и удобен в применении, однако имеет сложный алгоритм оценки и последующей интерпретации результатов. При анализе вопросов анкеты-опросника, максимально влияющих на конечную сумму баллов, установлено, что 10 (35,7 %) из них не сказываются на результатах.

Согласно данным разработанной нами анкеты, у 5 (12,5 %) пациентов состояние после оперативного вмешательства являлось удовлетворительным, при этом сумма баллов опросника соответствовала нормальным значениям. Риск развития заболевания выявлен у 19 (47,5 %) обследованных, легкие функциональные нарушения – у 11 (27,5 %), средние – у 5 (12,5 %). По результатам исследования из 21 вопроса данной анкеты 5 (23,8 %) не оказывали влияния на конечную сумму баллов.

Слабая корреляция наблюдалась при сопоставлении индекса ОНП-49 как с анкетой для прогнозирования развития осложнений одонтогенного синусита ВЧП, так и с разработанным опросником ( $\tau = 0,23$  и  $\tau = 0,33$  соответственно), при этом между последними установлена прямая зависимость умеренной степени ( $\tau = 0,53$ ). При сравнительном анализе ответов на перекликающиеся вопросы определялась сильная корреляционная связь данных двух анкет, а при сопоставлении каждой из них с индексом ОНП-49 по исследуемому параметру выявлена зависимость легкой и умеренной степени ( $p < 0,05$ ).

При ранжировании жалоб пациентов на момент обследования и их сопоставлении с результатами анкетирования наиболее слабая связь определялась с индексом ОНП-49 ( $\tau = 0,36$ ), более выраженная корреляция – с опросником прогнозирования развития осложнений одонтогенного синусита и разработанной анкетой ( $\tau = 0,48$  и  $\tau = 0,59$  соответственно) ( $p < 0,001$ ).

При анализе данных лучевых методов исследования у 1 (12,5 %) человека патологических изменений в синусе верхней челюсти на стороне ранее проведенной радикальной операции не выявлено, риск повторного развития заболевания установлен у 1 (12,5 %) пациента. Легкая степень тяжести, согласно ИСТ ХОС, определялась у 1 (12,5 %) пациента, средняя – у 2 (25 %), тяжелая – у 3 (37,5 %).

При сравнительном анализе соответствия полученных при субъективном и объективном обследовании данных достоверной связи индекса ОНП-49 и анкеты прогнозирования развития осложнений одонтогенного синусита с результатами клинического осмотра не выявлено ( $\tau = -0,15$  и  $\tau = 0,39$  соответственно,  $p > 0,05$ ), при этом между разработанным опросником и ИСТ ХОС определялась прямая умеренная зависимость ( $\tau = 0,59$  при  $p < 0,05$ ).

**Заключение.** Анкетирование как способ получения дополнительной информации в сочетании с данными клинического обследования позволяет выявить пациентов группы риска развития рецидивов заболеваний верхнечелюстного синуса одонтогенной этиологии на этапе обследования и при динамическом наблюдении после лечения. Индекс «Профиль влияния стоматологического здоровья» ОНП-49 не является достаточно чувствительным методом при диагностике хирургических заболеваний челюстно-лицевой области. Способ прогнозирования развития осложнений одонтогенного синусита позволяет установить вероятность рецидива заболевания, однако

основан на анализе только субъективных данных. Разработанная анкета объективизирует данные, характеризующие жалобы и анамнез, посредством включения блока вопросов для клинической оценки, что дает возможность получить согласующиеся с лучевыми методами исследования результаты и определяет прогностическую значимость метода для своевременного выявления групп риска и профилактики повторного развития заболевания.

### Список использованных источников

1. Топографо-анатомические взаимоотношения верхнечелюстных пазух с зубочелюстными сегментами верхней челюсти / И. В. Гайворонский [и др.] // Вестн. рос. воен.-мед. акад. – 2016. – № 2 (54). – С. 146–150.
2. Prakash, B. G. Incidence of odontogenic sinusitis – experience in a tertiary care center / B. G. Parkash, S. Biyyapu // Intern. J. of Sci. Study. – 2016. – Vol. 3, N 13. – P. 105–109.
3. Microbiocenosis of oral cavity in patients with dental implants and over-dentures / S. V. Sirak [et al.] // Res. J. of Pharmaceut., Biol. and Chem. Sci. – 2014. – Vol. 5, N 5. – P. 698–704.
4. Ярова, С. П. / Микрофлора гайморовых пазух у больных с одонтогенным гайморитом в зависимости от характера течения заболевания / С. П. Ярова, Е. А. Яценко, И. И. Яценко // Вопр. эксперим. и клин. медицины. – 2013. – Т. 1, № 17. – С. 364–367.
5. Mehra, P. Maxillary sinusitis of odontogenic origin / P. Mehra, D. Jeong // Curr. Allergy and Asthma Reports. – 2009. – Vol. 9, N 3. – P. 238–243.
6. Побережник, Г. А. Прогнозирование ближайших и отдаленных результатов хирургического лечения одонтогенных гайморитов / Г. А. Побережник // Совр. стоматология. – 2013. – № 2. – С. 71–81.
7. Стоматологическое здоровье в критериях качества жизни / О. С. Гилева [и др.] // Мед. вестн. Башкортостана. – 2011. – Т. 6, № 3. – С. 6–11.

### References

1. Gaivoronskii I. V., Gaivoronskaia M. G., Gudz'A. A., Semenova A. A., Ponomarev A. A. Topographo-anatomical relationships of maxillary sinus with dentoalveolar segments of upper jaw. *Vestnik rossijskoj voenno-medicinskoj akademii* [Bulletin of the Russian Military Medical Academy], 2016, no. 2, pp. 146–150. (in Russian).
2. Prakash B. G., Biyyapu S. Incidence of odontogenic sinusitis – experience in a tertiary care center. *International Journal of Scientific Study*, 2016, no. 13, pp. 105–109. doi: 10.17354/ijss/2016/130.
3. Sirak S. V., Avanesyan R. A., Akkalaev A. B., Demurova M. K., Dyagtyar E. A., Sirak A. G. Microbiocenosis of oral cavity in patients with dental implants and over-dentures. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2014, no. 5, pp. 698–704.
4. Iarova C. P., Iatsenko E. A., Iatsenko I. I. Microflora of maxillary sinuses for patients with odontogenous maxillary sinusitis depending on character of flow of disease. *Voprosy jeksperimental'noji klinicheskoi mediciny* [Questions of Experimental and Clinical Medicine], 2013, no. 17, pp. 364–367. (in Russian).
5. Mehra P., Jeong D. Maxillary sinusitis of odontogenic origin. *Current Allergy and Asthma Reports*, 2009, no. 3, pp. 238–243.
6. Poberezhnik G. A. Prognosis of close and late results of surgical treatment of odontogenic sinusitis. *Sovremennaja stomatologiya* [Modern Stomatology], 2013, no. 2, pp. 71–81. (in Russian).
7. Gileva O. S., Libik T. V., Khalilayeva E. V., Danilov K. V., Khalyavina I. N., Gileva Ye. S., Sadilova V. A., Plenkina Yu. A., Khokhrin D. V. Dental health in life quality criteria. *Medicinskij vestnik Bashkortostana* [Medical Bulletin of Bashkortostan], 2011, vol. 6, no. 3, pp. 6–11. (in Russian).

### Информация об авторах

Вилькицкая Кристина Вадимовна – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: drkristin.v@gmail.com.

Полякова Наталья Игоревна – врач-стоматолог. Минская областная стоматологическая поликлиника (ул. Козлова, 9, 220034, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: poliakova\_ni@mail.ru.

### Для цитирования

Вилькицкая, К. В. Риски развития осложнений после радикального оперативного лечения хронических заболеваний верхнечелюстной пазухи одонтогенной этиологии / К. В. Вилькицкая, Н. И. Полякова // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 2. – С. 117–120.

### Information about the authors

Vilkitskaya Kristina Vadimovna – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220116, Minsk, Republic Belarus). E-mail: drkristin.v@gmail.com.

Poliakova Natalia Igorevna – Dentist. Minsk Regional Dental Clinic (9, Kozlova Str., 220034, Minsk, Republic Belarus). E-mail: poliakova\_ni@mail.ru.

### For citation

Vilkitskaya K. V., Poliakova N. I. Risk assessment of complications after radical operative therapy of chronic maxillary sinus diseases of the odontogenic origin. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2017, no. 2, pp. 117–120.

**В. В. Хрусталеv<sup>1</sup>, Т. А. Хрусталева<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

<sup>2</sup>*Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

### **СКОРОСТЬ ЭВОЛЮЦИИ ГЕНА *APC*, КОДИРУЮЩЕГО БЕЛОК, ПРЕПЯТСТВУЮЩИЙ РАЗВИТИЮ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА**

Скорость фиксации синонимичных замен в гене *Adenomatous polyposis coli (APC)* значительно варьируется среди разных видов животных. Мутационное GC-давление, которому ранее подвергались гены *APC* грызунов, впоследствии сменилось на AT-давление. В результате вероятность возникновения синонимичной замены в гене *APC* грызунов значительно выше, чем в гомологичном гене человека, что не позволяет считать их, в отличие от обезьян, подходящей моделью для изучения колоректального рака.

*Ключевые слова:* колоректальный рак, мутационное давление, скорость эволюции, интрахомеры, синонимичные замены.

**V. V. Khrustalev<sup>1</sup>, T. A. Khrustaleva<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

<sup>2</sup>*Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

### **EVOLUTION RATE OF THE *APC* GENE CODING A PROTEIN PREVENTING THE COLORECTAL CANCER DEVELOPMENT**

The rates of synonymous mutations in *Adenomatous polyposis coli (APC)* gene varies greatly among different species of animals. *APC* genes of rodents had been under the influence of mutational GC-pressure that changed its direction to AT-pressure during a more recent period of time. As a result, the probability of synonymous mutation occurrence in the *APC* gene of rodents is significantly higher than in the homologous human gene. Rodents cannot be considered to be a reliable model for study of colorectal cancer, unlike monkeys.

*Keywords:* colorectal cancer, mutational pressure, evolution rate, intrachores, synonymous mutations.

**Введение.** Белок *Adenomatous polyposis coli (APC)* играет ключевую роль в предотвращении развития аденоматозного полипоза и колоректального рака [1]. Наиболее часто мутации в гене *APC* ведут к появлению стоп-кодона в середине рамки считывания (кодоны 1286–1585) [2]. Такие нонсенс-мутации связаны с мутационным AT-давлением [3]. Стоп-кодоны отличаются низкой GC-насыщенностью (TAG, TAA, TGA). Нуклеотидные мутации по направлению GC на AT приводят к появлению стоп-кодонов гораздо чаще, чем замены обратного направления [3].

Известно, что развитию колоректального рака способствует целый ряд факторов (богатая жирами пища, курение, употребление алкоголя, низкая физическая нагрузка) [4, 5]. В конечном итоге эти неспецифические факторы приводят к развитию окислительного стресса в клетках-мишенях. Свободные радикалы окисляют азотистые основания в экспрессируемых в этих клетках генах. В том случае, если система репарации функционирует нормально (так, как она работает в данный период жизненного цикла определенного типа клеток), она наиболее эффективно устраняет последствия только части возникающих мутаций. Поэтому чем сильнее окислительный стресс, тем сильнее мутационное давление, возникающее во время транскрипции [6].

Популяционные исследования не всегда дают однозначный ответ на вопрос о риске развития рака, так как невозможно учесть все особенности образа жизни и наследственную предрасположенность. Лучшие результаты могут быть достигнуты при исследовании генетически однородной линии лабораторных животных. Чаще всего для этого используют мышей или крыс. Однако

частота возникновения мутаций в гене *APC* таких модельных организмов должна соответствовать таковой в гомологичном гене человека.

Цель данного исследования – подбор модельного организма, подходящего для изучения факторов, влияющих на развитие колоректального рака, путем молекулярно-филогенетического анализа.

Задачи включали: 1) расчет скорости накопления несинонимичных и синонимичных нуклеотидных замен в кодирующем участке гена *APC*; 2) расчет частот возникновения нуклеотидных мутаций в гене *APC* мыши; 3) сравнение сдвигов в частотах использования нуклеотидов в экзонах гена *APC* человека и других млекопитающих.

**Материалы и методы исследования.** В качестве материала для исследования использованы 80 последовательностей кодирующих участков гена *APC* от различных животных. В выборку вошли 44 последовательности от млекопитающих, 18 – от птиц, 7 – от рептилий, 2 – от земноводных, 8 – от рыб, а также 1 последовательность от устрицы.

С помощью программы MEGA 7 ([www.megasoftware.net](http://www.megasoftware.net)) аминокислотные последовательности выравнивали методом Muscle. Затем производили расчет синонимичных и несинонимичных эволюционных дистанций для каждой пары последовательностей с использованием метода Kumar. Время дивергенции между каждой парой животных из выборки получали из базы данных TimeTree ([www.timetree.org](http://www.timetree.org)). Далее строили графики зависимости между каждой из эволюционных дистанций и временем дивергенции, вычисляли коэффициенты корреляции между этими показателями, а также угол наклона прямой, соответствующей тренду линейной зависимости между ними. На следующем этапе вычисляли количество нуклеотидных замен на сайт в 1 млрд лет. Для этого в уравнение, описывающее тренд линейной зависимости, подставляли 1 млрд лет и умножали на 2, так как обе последовательности после расхождения их эволюционных путей накапливают нуклеотидные замены.

Материалом для исследования нуклеотидных последовательностей каждого экзона гена *APC* человека, мыши, крысы и макаки служили соответствующие последовательности из международной базы данных Ensembl ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)). Для гена *APC* мыши использовали данные о полиморфизме (2196 точечных нуклеотидных мутаций), хранящиеся в той же международной базе данных.

Распределение частот использования нуклеотидов на протяжении кодирующих участков генов анализировали с помощью алгоритма VVTAK SW (<http://chemres.bsmu.by>), а частот использования нуклеотидов в каждом из трех положений кодонов – с помощью алгоритма VVK Protective Buffer (<http://chemres.bsmu.by>). Для сравнения частот возникновения герминативных нуклеотидных замен (синонимичных и миссенс мутаций) в генах *APC* мыши и человека применяли *t*-тест для относительных величин.

**Результаты и их обсуждение.** На рис. 1 приведен график зависимости между несинонимичными и синонимичными дистанциями и временем дивергенции между видами, которым принадлежат использованные последовательности.

Как несинонимичная, так и синонимичная дистанции в целом демонстрируют прямую зависимость от времени дивергенции (коэффициенты корреляции – 0,7946 и 0,8728 соответственно). Однако для каждой точки дивергенции разброс значений синонимичной дистанции очень велик (рис. 1). Действительно, для многих пар последовательностей время дивергенции является общим (например, для всех птиц и всех млекопитающих общее время дивергенции – 320,5 млн лет, для птиц и аллигаторов – 238,3 млн лет), а синонимичные эволюционные дистанции – разными. То есть для несинонимичных замен принцип молекулярных часов работает гораздо лучше, чем для синонимичных.

Средняя скорость накопления несинонимичных замен равна 0,858 замен на сайт в 1 млрд лет. Для синонимичных замен средняя скорость фиксации составила 6,6272 на сайт в 1 млрд лет. Скорость накопления синонимичных замен, судя по нашим результатам, у одних видов животных гораздо быстрее, чем у других. Если провести линию через точки, соответствующие минимальным значениям синонимичной дистанции для каждого времени дивергенции, то скорость накопления синонимичных мутаций (5,046 замен на сайт в 1 млрд лет) окажется почти в 2 раза ниже, чем при проведении линии через точки, соответствующие максимальным значениям (9,482 замен на сайт в 1 млрд лет).

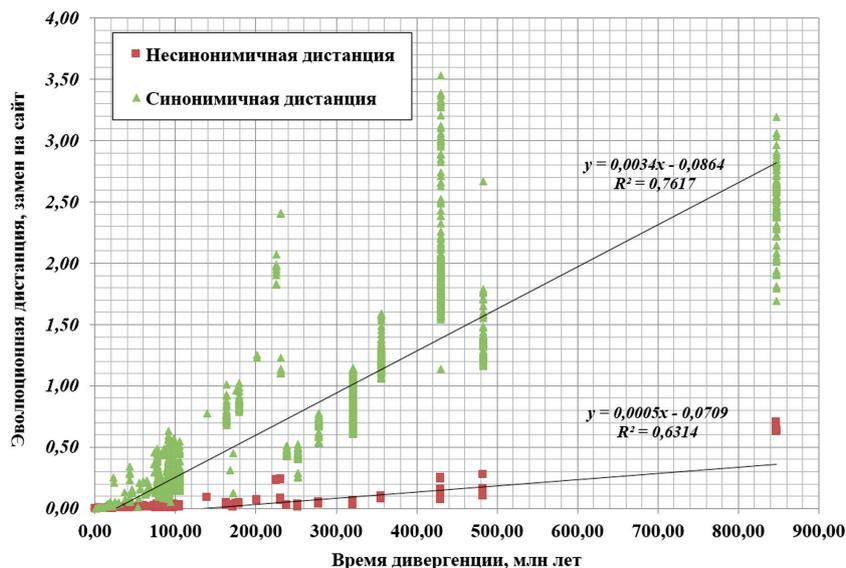


Рис. 1. Зависимость между временем дивергенции генов *APC* 80 видов животных и синонимичной и несинонимичной дистанциями между ними

Fig. 1. Dependence between the divergence time of the *APC* genes of 80 animal species and the nonsynonymous distances between them

Наиболее часто модели заболеваний создают на грызунах (мышьях или крысах). В случае с геном *APC* такое моделирование может привести к серьезной недооценке факторов риска.

Сравнение насыщенности генов *APC* человека и мыши гуанином и цитозином (GC-насыщенности) показало, что кодирующий участок гена мыши отличается значительно более высокой GC-насыщенностью третьих положений кодонов. Как видно на рис. 2, на протяжении практически всего кодирующего участка 3GC в гене мыши выше, чем в гене человека. Однако в разных фрагментах кодирующего участка эта разность может увеличиваться или снижаться.

Известно, что в гене *APC* человека среди герминативных мутаций преобладают замены по направлению GC на AT [3]. Несмотря на более высокий уровень 3GC в гене мыши количество герминативных нуклеотидных замен по направлению GC на AT в нем (36,18 %) достоверно ( $P < 0,01$ )

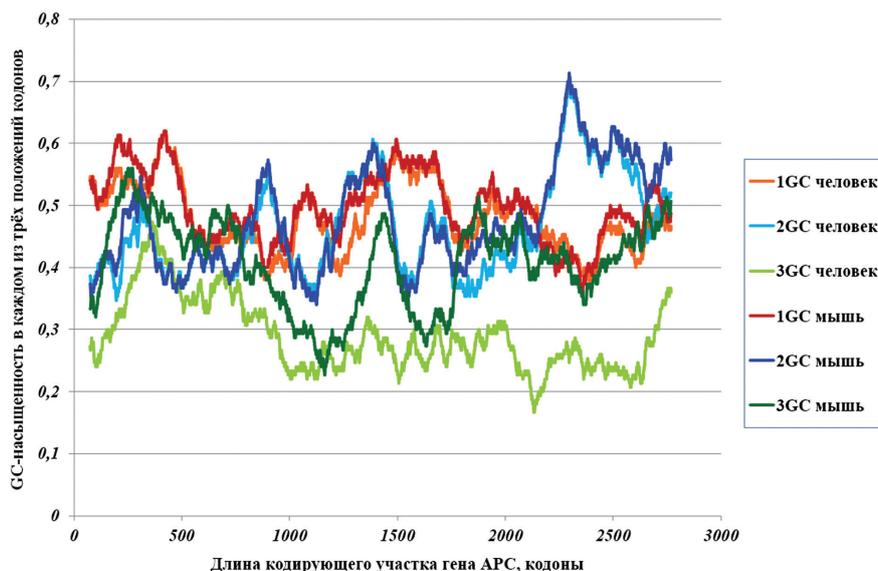


Рис. 2. Распределение частот использования гуанина и цитозина в трех положениях кодонов на протяжении гена мыши и человека. Размер окна – 150 кодонов

Fig. 2. Frequency of guanine and cytosine use at three positions of codons during the *APC* gene of mouse and human. Window size – 150 codons

превышает количество замен по направлению АТ на GC (29,97 %). Судя по этим данным, в гене *APC* мыши должно существовать мутационное АТ-давление [6], так же как и в соответствующем гене человека [3]. Если предположить, что у общего предшественника млекопитающих ген *APC* имел низкую GC-насыщенность, то на протяжении эволюционной истории мыши этот ген подвергался GC-давлению, которое впоследствии сменилось на исходное АТ-давление. Однако на сегодняшний день повышенный уровень 3GC в кодирующей части еще сохранился.

При более высоких значениях 3GC в гене вероятность того, что мутация GC на АТ будет синонимичной, должна быть выше. Действительно, в гене мыши синонимичные мутации (71,09 %) значительно ( $P < 0,01$ ) преобладают над несинонимичными (28,91 %). Такая ситуация считается вполне закономерной с точки зрения теории нейтральности М. Кимуры [7]. Странной с точки зрения этой теории является ситуация, описанная для гена *APC* человека, в котором несинонимичные замены (76,03 %) преобладают ( $P < 0,001$ ) над синонимичными (23,97 %) [3]. Получается, что за счет повышенной GC-насыщенности третьих положений кодонов гена *APC* мыши вероятность несинонимичной и нонсенс-мутации в нем значительно ниже, чем в гомологичном гене человека.

Свидетельством недавней смены мутационного давления в гене мыши является  $3GC = 34,86\%$ , что на 10,05 % превышает аналогичный показатель у человека ( $3GC = 24,81\%$ ). Похожая ситуация в гене *APC* обнаружена нами и у других часто используемых модельных животных: у крысы ( $3GC = 39,65\%$ ) и у собаки ( $3GC = 33,42\%$ ). У кошки ( $3GC = 26,24\%$ ) и у морской свинки ( $3GC = 26,90\%$ ) уровень 3GC приближается к такому у человека. Однако значение 3GC, практически идентичное такому же показателю в гене человека, характерно для *APC* обезьян, из которых наибольший интерес представляют макаки ( $3GC = 24,93\%$ ).

Структура экзонов в гене *APC* всех млекопитающих консервативна. Если сравнить GC-насыщенность каждого из соответствующих друг другу экзонов генов человека и мыши, то выяснится, что у двух из них различия в 3GC особенно выражены (рис. 3). Это говорит о том, что в предшественнике гена *APC* мыши не только существовало общее GC-давление, но и еще более сильное локальное GC-давление в районе экзонов № 5 и № 6. Такой феномен наблюдается при наличии автономно транскрибирующихся последовательностей внутри гена [8]. Предположительно эти последовательности кодируют короткие регуляторные РНК (микроРНК), экспрессирующиеся на определенном этапе эмбриогенеза [8]. Интересно отметить, что попадающие в состав таких «мини-генов» экзоны довольно быстро накапливают (или теряют) GC-насыщенность в третьем положении кодонов. Даже в гене *APC* крысы уровень 3GC в гомологичном экзоне № 6 значительно

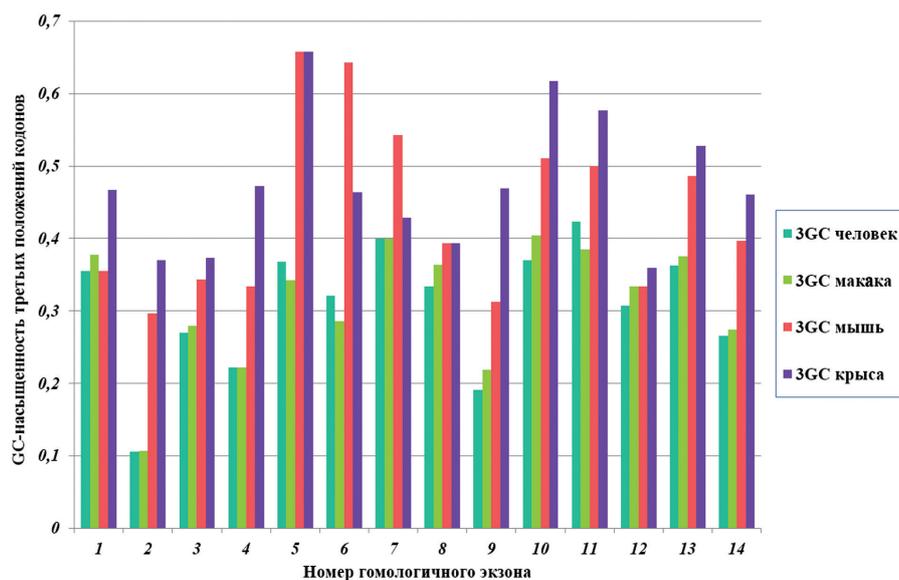


Рис. 3. Насыщенность гуанином и цитозином третьих положений кодонов экзонов гена *APC* человека, макаки, мыши и крысы

Fig. 3. Saturation by guanine and cytosine of third codon positions of exons of the *APC* gene of human, macaque, mouse and rat

ниже, чем в соответствующем экзоне гена мыши (рис. 3), но значения 3GC в экзоне № 5 у мыши и крысы практически идентичны. В гене крысы имеются и свои собственные «интрахоры» с более высокой GC-насыщенностью: гомологичные экзоны № 10 и № 11.

GC-насыщенность третьих положений кодонов гомологичных экзонов гена макаки практически идентична таковой для экзонов гена человека (рис. 3).

Мутационное АТ-давление в гене *APC* у человека и макаки является более сильным, чем в гене *APC* мыши и крысы. Любой неспецифический фактор при одинаковой интенсивности воздействия вызовет возникновение миссенс- и нонсенс-мутаций в гене *APC* мыши или крысы в среднем через более продолжительный промежуток времени, чем в гене *APC* человека или макаки.

**Заключение.** Скорость накопления синонимичных замен в гене *APC* значительно варьируется среди хордовых животных, что связано со сменой направления мутационного давления как на протяжении всего гена, так и в отдельных экзонах.

Несмотря на совпадение направления мутационного давления в гене *APC* мыши и человека, вероятность возникновения мутации, способной привести к развитию колоректального рака, для гена мыши значительно ниже, чем для гена человека.

Модельные исследования *in vivo* по выяснению уровня риска развития колоректального рака под воздействием различных факторов внешней среды на мышах и других грызунах не будут являться достаточно информативными, так как их гены, как правило, защищены от возникновения канцерогенных мутаций.

Для модельных исследований по оценке степени риска развития колоректального рака больше подходят виды животных с полным совпадением как направления, так и силы мутационного давления в гене *APC* (обезьяны, в частности макака).

### Список использованных источников

1. Aoki, K. Adenomatous polyposis coli (APC): a multi-functional tumor suppressor gene / K. Aoki, M. M. Taketo // *J. of Cell Sci.* – 2007. – Vol. 120. – P. 3327–3335.
2. Fearnhead, N. S. The ABC of APC / N. S. Fearnhead, M. P. Britton, W. F. Bodmer // *Human Mol. Genetics.* – 2001. – Vol. 10. – P. 721–733.
3. Барашкова, Е. С. Преобладающие типы нуклеотидных мутаций в гене *APC* человека, кодирующем белок, препятствующий развитию колоректального рака [Электронный ресурс] / Е. С. Барашкова, Т. А. Хрусталева, В. В. Хрусталева // Молодежь в науке : материалы XII Междунар. науч. конф. молодых ученых, 1–4 дек. 2015 г. / Нац. акад. наук Беларуси, Совет молодых ученых. – Электрон. текстовые, граф. данные и приклад. программа. – 1 комп. опт. диск (CD-ROM). – Минск, 2015. – С. 73–84.
4. Браун, Е. М. Факторы диеты и риск возникновения колоректального рака / Е. М. Браун // *Клин. хирургия.* – 1996. – № 6. – С. 44–46.
5. Cigarette smoking and adenomatous polyps: a meta-analysis / E. Botteri [et al.] // *Gastroenterology.* – 2008. – Vol. 134. – P. 388–395.
6. Sueoka, N. Directional mutation pressure and neutral molecular evolution / N. Sueoka // *Proc. of the Nat. Acad. of Sci. of USA.* – 1988. – Vol. 85. – P. 2653–2657.
7. Кимура, М. Молекулярная эволюция: теория нейтральности : пер. с англ. / М. Кимура ; пер. А. Г. Имашевой, Е. А. Салменковой и Е. Я. Тетушкина ; под ред. Ю. П. Алтухова и Л. А. Животовского. – М. : Мир, 1985. – 394 с.
8. Intragenic isochores (intrachores) in the platelet phosphofructokinase gene of Passeriform birds / V. V. Khrustalev [et al.]. – *Gene.* – 2014. – Vol. 546, iss. 1. – P. 16–24.

### References

1. Aoki, K., Taketo M. M. Adenomatous polyposis coli (APC): a multi-functional tumor suppressor gene. *Journal of Cell Science*, 2007, vol. 120, pp. 3327–3335.
2. Fearnhead N. S., Britton M. P., Bodmer W. F. The ABC of APC. *Human Molecular Genetics*, 2001, vol. 10, pp. 721–733.
3. Barashkova E. S., Khrustaleva T. A., Khrustalev V. V. Mutational pressure in the human APC gene. *Materialy XII Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii molodykh uchenykh "Molodezh' v nauke"* [Materials of the XII International Conference of Young Scientists "The Youth in Science"], Electronic Resources (CD-ROM), Natsional'naiia akademiia nauk Belarusi, Sovet molodykh uchenykh [National Academy of Sciences of Belarus, Council of Young Scientists]. Minsk, 2015, pp. 73–84. (in Russian).
4. Braun E. M. Factors of diet and a risk of colorectal cancer appearance. *Clinicheskaya Chirurgiya = Clinical Surgery*, 1996, no. 6, pp. 44–46. (in Russian).

5. Botteri E., Iodice S., Raimondi S., Maisonneuve P., Lowenfels A. B. Cigarette smoking and adenomatous polyps: a meta-analysis. *Gastroenterology*, 2008, vol. 134, pp. 388–395.

6. Sueoka N. Directional mutation pressure and neutral molecular evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 1988, vol. 85, pp. 2653–2657.

7. Kimura M. *The neutral theory of molecular evolution*, translation from English by Imasheva A. G., Salmenkova E. A., Tetushkina E. Ya., in Altukhov Yu. P., Zhivotovsky L. A. (ed.). Moscow, Mir [World], 1985, 394 p. (in Russian).

8. Khrustalev V. V., Barkovsky E. V., Khrustaleva T. A., Lelevich S. V. Intragenic isochores (intrachores) in the platelet phosphofructokinase gene of Passeriform birds. *Gene*, 2014, vol. 546, iss. 1, pp. 16–24.

### Информация об авторах

*Хрусталеv Владислав Викторович* – доцент, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vvkhrustalev@mail.ru.

*Хрусталева Татьяна Александровна* – ст. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tanissia.lir@gmail.com.

### Для цитирования

Хрусталеv, В. В. Скорость эволюции гена *APC*, кодирующего белок, препятствующий развитию колоректального рака / В. В. Хрусталеv, Т. А. Хрусталева // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 2. – С. 121–126.

### Information about the authors

*Khrustalev Vladislav Victorovich* – Assistant Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskiy Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vvkhrustalev@mail.ru.

*Khrustaleva Tatyana Aleksandrovna* – Senior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tanissia.lir@gmail.com.

### For citation

Khrustalev V. V., Khrustaleva T. A. Evolution rate the of *APC* gene coding a protein preventing the colorectal cancer development. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2017, no. 2, pp. 121–126.

**ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСИ**  
**SCIENTISTS OF BELARUS**

**ПАМЯТИ ЮРИЯ ЕВГЕНЬЕВИЧА ДЕМИДЧИКА**



13 марта 2017 г. белорусская наука понесла тяжелую утрату. На 58-м году ушел из жизни известный ученый-онколог, талантливый исследователь и организатор медицинской науки и здравоохранения, член-корреспондент НАН Беларуси, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии Белорусской медицинской академии последипломного образования Юрий Евгеньевич Демидчик.

Ю. Е. Демидчик родился 14 марта 1958 года в г. Минске. В 1981 г. окончил с отличием лечебный факультет Минского ордена Трудового Красного Знамени государственного медицинского института по специальности «Лечебное дело». С 1981 по 1983 г. был клиническим ординатором в Научно-исследовательском институте онкологии и медицинской радиологии Министерства здравоохранения БССР, с 1983 по 1986 г. – аспирантом этого института. После окончания аспирантуры с 1987 по 1994 г. работал младшим научным сотрудником, старшим научным сотрудником отдела хирургического и комбинированного методов лечения Научно-исследовательского института онкологии и медицинской радиологии Министерства здравоохранения БССР. В 1989 г. защитил кандидатскую диссертацию по теме «Комбинированное лечение больных раком легкого с использованием радиомодифицирующих воздействий». С октября 1994 г. работал на кафедре онкологии Минского государственного медицинского института сначала в должности ассистента, а затем доцента. В 1997 г. защитил диссертацию на соискание ученой степени доктора медицинских наук по теме «Радикальное лечение больных раком легкого». Ученое звание профессора присвоено в 2002 г., в 2009 г. избран членом-корреспондентом. В период с 2009 по 2014 г. – ректор Белорусской медицинской академии последипломного образования, с 2014 до последних дней заведовал кафедрой онкологии БелМАПО.

Научная деятельность Ю. Е. Демидчика посвящена широкому кругу фундаментальных и прикладных проблем современной онкологии, включая молекулярногенетические механизмы патогенеза карцином щитовидной железы, злокачественных новообразований яичников.

С 1981 г. Ю. Е. Демидчик активно начал работать над проблемой комбинированного лечения пациентов со злокачественной опухолью легкого с использованием электронноакцепторных соединений и общей искусственной гипергликемии. Им разработан и внедрен новый в международной практике метод адьювантной полихимиотерапии при радикальном лечении этого заболевания (1990 г.). Ю. Е. Демидчик являлся участником международного проекта по изучению рака легкого Исследовательского Центра по изучению рака Венского университета (1991–1994 гг.). Большое научно-практическое значение имеют его работы по применению модификаторов радиочувствительности в онкологии.

Значительное место в научной работе Ю. Е. Демидчика занимали исследования, посвященные проблемам клинического течения и хирургического лечения рака щитовидной железы (в частности, у детей), новообразований средостения. Юрий Евгеньевич был руководителем и ответственным исполнителем многих государственных научно-технических заданий и крупных международных проектов (JSP-4, INCOCOPERNICUS, ISTD И INTAS). Проходил неоднократно стажировки в университетских хирургических клиниках Японии по специальности врач-онколог. Имел высшую квалификационную категорию по онкологии.

Как ученый, Юрий Евгеньевич обладал высоким творческим потенциалом и необычной работоспособностью, широким диапазоном знаний. Им опубликовано свыше 600 научных работ, в том числе 21 монография, получено более 16 патентов. Результаты его научных исследований отражены в многочисленных материалах отечественных и зарубежных научных форумов, включая сборники ВОЗ, МАГАТЭ и МАИР (Международное агентство по изучению рака).

Под руководством Ю. Е. Демидчика защищено 3 докторских и 14 кандидатских диссертаций. Он являлся председателем Совета по защите диссертаций по специальностям «Хирургия, анестезиология и реаниматология, урология, трансплантация и искусственные органы» при БелМАПО, членом Совета по защите диссертаций при РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова; заместителем редактора журнала «Медицина»; членом редакционных советов журналов «Здравоохранение Беларуси», «ARS MEDICA», «Весті НАН Беларусі. Серыя медыцынскіх навук»; членом Европейской ассоциации по изучению рака (ESGO, 1994 г., IGCS, 2011 г.); членом правления Белорусского общества онкологов; экспертом ВОЗ по вопросам радиогенного рака. В период с 2004 по 2009 г. он работал в составе экспертного совета ВАК и государственного экспертного совета по здравоохранению Государственного комитета по науке и технологиям.

Ю. Е. Демидчик награжден Почетной грамотой Министерства здравоохранения Республики Беларусь (2002 г.), знаком «Отличник здравоохранения Республики Беларусь» (2008 г.), Почетной грамотой комитета по здравоохранению Мингорисполкома (2011 г.), Почетной грамотой Минского городского исполнительного комитета, Почетной грамотой ВАК Республики Беларусь (2011 г.), Почетной грамотой Национального собрания Республики Беларусь (2012 г.).

Плодотворная жизнь Юрия Евгеньевича оборвалась, когда он был полон новых замыслов и планов. До последних дней он трудился, делился опытом со своими учениками, единомышленниками, для которых всегда был доброжелательным наставником, чутким, отзывчивым человеком.

Весь жизненный путь Ю. Е. Демидчика является примером бескорыстного служения науке. Талантливый ученый, внимательный и опытный врач, интересный и эрудированный собеседник, обаятельный и доброжелательный человек, он снискал глубокое уважение и заслуженный авторитет среди научной и медицинской общественности нашей республики и далеко за ее пределами. Светлая память о Юрии Евгеньевиче Демидчике – ученом, руководителе и гражданине навсегда сохранится в сердцах его учеников и коллег.

*Отделение медицинских наук НАН Беларуси, редколлегия*