

ВЕСЦІ НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2017. № 3

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2017. № 3

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,
Минск, Беларусь

Редакционная коллегия

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

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

Редакционный совет

Э. Алекнавичус – Национальный институт рака, Вильнюс, Литва
Марк М. Ван Гулле – Университет Лёвен, Лёвен, Бельгия
Джурич Драган – Институт медицинской физиологии Ричарда Бьюриана Университета Белграда, Белград, Сербия
Т. П. Ключник – Российская академия медицинских наук, Москва, Россия
В. А. Кульчицкий – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
М.-А. Кусто – Анжерский университет, Анже, Франция
А. И. Мартынов – Медицинский центр Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Россия
Л. И. Надольник – Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
Р. Г. Оганов – Российское кардиологическое общество, Москва, Россия
Н. Д. Савенкова – Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия
М. В. Угрюмов – Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова Российской академии наук, Москва, Россия
И. А. Чешик – Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Беларусь

Адрес редакции:

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

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ.

Серия медицинских наук. 2017. № 3.

Выходит на русском, белорусском и английском языках

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

Подписано в печать 17.08.2017. Выход в свет 29.08.2017. Формат 60×84^{1/8}. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 52 экз. Заказ 148.
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. 3

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, Minsk, Belarus

Editorial Board

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

Editorial Council

- Eduardas Aleknavicius** – National Cancer Institute, Vilnius, Lithuania
Igor A. Cheshik – Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences, Gomel, Belarus
Mark-Antoine Custaud – University of Angers, Angers, France
Dragan Djuric – Richard Buryan Medical Physiology Institute of the University of Belgrade, Belgrade, Serbia
Mark M. Van Hulle – University of Leuven, Leuven, Belgium
Tatiana P. Klyushnik – Scientific Center of Mental Health of the Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia
Vladimir A. Kulchitsky – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences, Minsk, Belarus
Anatoly I. Martynov – Medical Center of the Administration of the President of the Russian Federation, Moscow, Russia
Liliya I. Nadolnik – Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
Raphael G. Oganov – Russian Cardiology Society, Moscow, Russia
Nadezhda D. Savenkova – Saint-Petersburg State Pediatric Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia
Mikhail V. Ugryumov – Koltzov Developmental Biology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Address of the Editorial Office:

*1, Akademicheskaya Str., room 119, 220072, Minsk, Republic of Belarus.
Phone: +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. 3.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

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

Sent for press 17.08.2017. Output 29.08.2017. Format 60×84¹/₈. Offset paper.
Digital press. Printed sheets 14,88. Publisher's signatures 16,4. Circulation 52 copies. Order 148.
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

ISSN 1814-6023 (print)

ЗМЕСТ**КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА**

Митьковская Н. П., Третьяк С. И., Герасименко Д. С., Картун Л. В., Мансуров В. А., Григоренко Е. А. Маркеры миокардиального и оксидативного стресса, эндотелиальной дисфункции, атеротромбоза и реологические показатели крови у пациентов после срочной холецистэктомии	7
Висмонт Ф. И., Лобанова В. В. Участие аргиназы печени и клеток Купфера в процессах детоксикации и развития оксидативного стресса у крыс при хронической этаноловой интоксикации	15
Лелевич В. В., Лелевич С. В. Коррекция метаболических нарушений композициями аминокислот при прерывистой алкогольной интоксикации	22
Поклонская Н. В., Амвросьева Т. В., Лозюк С. К., Шилова Ю. А., Богущ З. Ф., Бискина Н. М. Молекулярная эпидемиология энтеровирусов, вызывающих тяжелые неврологические формы инфекции	29
Михайлов А. Н., Абельская И. С., Малевич Э. Е., Лукьяненко Т. Н., Жарнова В. В. Лучевые экспертные критерии, характеризующие дегенеративно-дистрофические изменения при шейном остеохондрозе	37
Юзефович Н. А., Студеникина Т. М., Мельников И. А. Особенности возрастных структурных изменений эластических мембран средней оболочки аорты	45
Курак Т. А., Авдей Л. Л., Ильина Т. В., Митьковская Н. П. Мультиспиральная компьютерная томография в диагностике коронарного атеросклероза у пациентов с ревматоидным артритом	56
Спиридонов С. В. Ремоделирование левого желудочка сердца у пациентов после имплантации аортального аллогraftа	64
Стельмашок В. И. Временные тенденции успешной реканализации хронических тотальных окклюзий коронарных артерий антеградным доступом и риска развития кардиальных осложнений	72
Рожко А. В., Чешик А. А., Веялкин И. В., Никонович С. Н. Заболеваемость злокачественными новообразованиями крови и лимфатической системы у ликвидаторов катастрофы на ЧАЭС в Республике Беларусь	82
Амвросьева Т. В., Богущ З. Ф., Бискина Н. М., Поклонская Н. В., Лозюк С. К., Казинец О. Н. Клинико-эпидемиологические и этиологические характеристики энтеровирусных инфекций в Республике Беларусь	91
Шуканова Н. А., Мартынова М. А., Бушмакина И. М., Молчан М. М., Брич М. А., Козловская Н. А., Шаповал Е. В. АХЭ тест-система для индивидуализации неоадьювантной полихимиотерапии	100
Дударева И. В. Диагностика аденолимфомы околоушной железы: корреляция результатов предоперационной ультразвуковой диагностики и гистологического исследования удаленных опухолей	107
Пархач Л. П., Ашуров Р. Г., Смянович А. Ф., Титовец Э. П., Босякова Е. В. Нарушения водного обмена головного мозга при опухолях различной степени злокачественности	111

АГЛЯДЫ

Хархаль А. Н., Титов Л. П. Иммунная система прокариот: молекулярные механизмы, применение в микробиологии	121
--	-----

CONTENTS**CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE**

Mitkovskaya N. P., Tretiak S. I., Gerasimenok D. S., Kartun L. V., Mansurov V. A., Grigorenko E. A. Markers of myocardial and oxidative stress, endothelial dysfunction, atherothrombosis and rheological indices of blood of patients after urgent cholecystectomy	7
Vismont F. I., Lobanova V. V. Participation of liver arginase and Kupffer's cells in the processes of detoxication and development of the oxydative stress in rats with chronic ethanol intoxication.....	15
Lelevich V. V., Lelevich S. V. Correction of metabolic disorders due to amino acid compositions at intermittent alcohol intoxication	22
Paklonskaya N. V., Amvrosieva T. V., Lozuk S. K., Shilova Y. A., Bogush Z. F., Biskina N. M. Molecular epidemiology of enteroviruses causing severe neurological infection forms.....	29
Mikhailov A. N., Abelskaya I. S., Malevich E. E., Lukyanenko T. N., Zharnova V. V. X-ray expert criteria characterizing degenerative-distrophic changes in cervical osteochondrosis.....	37
Yuzefovich N. A., Studenikina T. M., Melnikov I. A. Age features of the structural changes in elastic membranes of the abdominal aorta.....	45
Kurak T. A., Avdey L. L., Ilyina T. V., Mitkovskaya N. P. Multispiral computer tomography in coronary artery atherosclerosis diagnosis in patients with rheumatoid arthritis	56
Spiridonov S. V. Heart left ventricle remodeling in patients after implantation of aortic allograft.....	64
Stelmashok V. I. Temporary trends of success rate and cardiac complication risk in chronic total occlusion recanalization by the antegrade approach.....	72
Rozhko A. V., Cheshik A. A., Veyalkin I. V., Nikanovich S. N. Incidence of malignant neoplasms of blood and lymphatic system of liquidators of the Chernobyl accident in the Republic of Belarus.....	82
Amvrosieva T. V., Bohush Z. F., Biskina N. M., Paklonskaya N. V., Lozyuk S. K., Kazinets O. N. Clinical, epidemiological and etiological characteristics of the enteroviral infections in the Republic of Belarus	91
Shukanova N. A., Martynova M. A., Bushmakina I. M., Molchan M. M., Britch M. A., Kazlouskaya N. A., Shapova E. V. AChE test-system for individualization of neoadjuvant polychemotherapy.....	100
Dudareva I. V. Adenolymphoma of the parotid gland: correlation of the results of pre-operative ultrasound diagnostics and histological research of removed tumors.....	107
Parkhach L. P., Ashurov R. G., Smeyanovich A. F., Titovets E. P., Basiakova K. V. Disturbance of brain water metabolism in tumors of different-degree malignancy	111
SURVEYS	
Kharkhal A. N., Titov L. P. Procariotic immune system: molecular mechanisms, application in microbiology	121

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА
CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК 616.366-089.87-02:616.15

Поступила в редакцию 20.06.2017
Received 20.06.2017

**Н. П. Митьковская, С. И. Третьяк, Д. С. Герасименко, Л. В. Картун,
В. А. Мансуров, Е. А. Григоренко**

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

**МАРКЕРЫ МИОКАРДИАЛЬНОГО И ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА,
ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ, АТЕРОТРОМБОЗА
И РЕОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ
ПОСЛЕ СРОЧНОЙ ХОЛЕЦИСТЭКТОМИИ**

Аннотация. Установлено, что у пациентов с острым калькулезным холециститом в 1-е сутки госпитализации уровни провоспалительных маркеров в крови (лейкоцитов, высокочувствительного С-реактивного белка, интерлейкина-6) повышаются, а через месяц после холецистэктомии достоверно снижаются. Отмечалось также увеличение содержания маркеров атеротромбоза и эндотелеальной дисфункции среди обследуемых через месяц после холецистэктомии. Показатель миокардиального стресса (NTproBNP) не изменялся в отдаленном послеоперационном периоде. Нарушения реологических свойств крови у пациентов с острым калькулезным холециститом в 1-е сутки госпитализации отсутствовали, однако после холецистэктомии некоторые реологические показатели ухудшались. При проведении консервативного лечения пациентов с острым калькулезным холециститом отмечались более высокие концентрации биомаркеров воспаления и атеротромбоза, чем при выполнении срочной холецистэктомии.

Ключевые слова: маркеры воспаления, дисфункция эндотелия, атеротромбоз, реологические показатели, острый холецистит, холецистэктомия

Для цитирования: Маркеры миокардиального и оксидативного стресса, эндотелиальной дисфункции, атеротромбоза и реологические показатели крови у пациентов после срочной холецистэктомии / Н. П. Митьковская [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 3. – С. 7–14.

**N. P. Mitkovskaya, S. I. Tretiak, D. S. Gerasimenok, L. V. Kartun,
V. A. Mansurov, E. A. Grigorenko**

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

**MARKERS OF MYOCARDIAL AND OXIDATIVE STRESS,
ENDOTHELIAL DYSFUNCTION, ATHEROTHROMBOSIS AND RHEOLOGICAL INDICES
OF BLOOD OF PATIENTS AFTER URGENT CHOLECYSTECTOMY**

Abstract. It was found that proinflammatory markers (leukocytes, high-sensitivity C-reactive protein, interleukin-6) increase for the first day of hospitalization in patients with acute calculous cholecystitis and significantly decrease in one month after cholecystectomy. It was established that the levels of atherothrombotic and endothelial dysfunction markers among the examined patients grow in one month after cholecystectomy. The index of myocardial stress (NTproBNP) did not change in the distant postoperative period. For the first day of hospitalization, the disturbances in the rheological indices of blood in patients with acute calculous cholecystitis were observed, but after cholecystectomy, some rheological indices became worse. Conservative management of patients with acute calculous cholecystitis was accompanied by increasing inflammation biomarkers and atherothrombotic markers concentrations in comparison to patients who underwent urgent cholecystectomy.

Keywords: markers of inflammation, endothelial dysfunction, atherothrombosis, rheological indices, acute cholecystitis, cholecystectomy

For citation: Mitkovskaya N. P., Tretiak S. I., Gerasimenok D. S., Kartun L. V., Mansurov V. A., Grigorenko E. A. Markers of myocardial and oxidative stress, endothelial dysfunction, atherothrombosis and rheological indices of blood of patients after urgent cholecystectomy. *Vesti Natsyonal'nai akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 7–14 (in Russian).

Введение. Для обеспечения наилучшего результата проводимого лечения необходимо учитывать такое понятие, как коморбидность, все чаще встречающееся в современной хирургической практике [1]. В связи с сохраняющимся первенством сердечно-сосудистой патологии в структуре летальности во всем мире учет коморбидности направлен в первую очередь на профилактику сердечно-сосудистых осложнений у пациентов, подвергающихся внесердечным хирургическим вмешательствам [2]. Оценка кардиоваскулярного риска зачастую ограничивается временными факторами вследствие кратковременного контакта с пациентом при экстренных или срочных хирургических вмешательствах. Это обуславливает необходимость разработки диагностического скринингового метода для дифференцированной оценки кардиоваскулярного риска и последующей его коррекции у пациентов непосредственно перед внесердечными хирургическими вмешательствами. В современной внесердечной хирургии для этого используются различные варианты предоперационной оценки кардиоваскулярного риска (КВР), которые, однако, не лишены ряда недостатков [3–6]. Сохраняющуюся актуальность и значимость данной проблемы подтверждают существующие клинические рекомендации Всероссийского научного общества кардиологов [7] и европейских медицинских обществ ESC/ESA [8], в которых предпринята попытка обобщения накопленных знаний по оценке и снижению КВР при внесердечных хирургических вмешательствах.

Цель исследования – выявить предикторы неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов с острым калькулезным холециститом.

Материалы и методы исследования. В проспективном исследовании приняли участие пациенты с умеренным, высоким и очень высоким КВР, у которых развился острый калькулезный холецистит, требующий госпитализации и решения вопроса о хирургическом вмешательстве. Основная группа состояла из пациентов с острым калькулезным холециститом, у которых применялась кардиопротективная терапия (аторвастатин – 40 мг/сут, ацетилсалициловая кислота – 75 мг/сут) и выполнялась срочная холецистэктомия (группа ОКТ). Группа сравнения 1 была сформирована из пациентов, у которых выполнялась срочная холецистэктомия, но не применялась кардиопротективная терапия (группа ОП). В группу сравнения 2 вошли пациенты, у которых применялась кардиопротективная терапия, но не выполнялась холецистэктомия (группа КТ). Для оценки маркеров миокардиального, оксидативного стресса, эндотелиальной дисфункции и атеротромбоза исследовали концентрации в крови таких молекул, как высокочувствительный С-реактивный белок (ВЧСРБ), сосудисто-клеточная молекула адгезии (sVCAM-1), межклеточная молекула адгезии-1 (ICAM-1), матриксная металлопротеиназа-9 (ММР-9), интерлейкин-6 (ИЛ-6), липопротеин-связанная фосфолипаза А2 (LpPLA2), гомоцистеин, аполипопротеин β, натрийуретического гормона N-концевой полипептид (NT-proBNP). Оценивали реологические показатели крови и плазмы, состояние системы гемостаза.

Результаты и их обсуждение. Некоторые показатели общего и биохимического анализа крови пациентов, включенных в исследование, представлены в табл. 1. Забор крови производили утром натощак, анализы выполняли в условиях локальной клинической лаборатории.

У всех пациентов, поступивших с диагнозом острого калькулезного холецистита, выявлен лейкоцитоз. Степень его выраженности не различалась между группами исходно и на протяжении наблюдения. Внутригрупповая динамика уровня лейкоцитов продемонстрировала достоверное снижение их числа на 3-и и 6-е сутки от момента поступления. Медианы уровней гемоглобина, мочевины, амилазы, креатинина находились в пределах референтных значений у большинства пациентов в группах и не различались между группами, наблюдалась лишь тенденция к более высоким уровням креатинина у пациентов без холецистэктомии к 6-м суткам наблюдения. Исходно у пациентов основной группы и группы сравнения 1 выявлен повышенный уровень гликемии, что могло быть обусловлено стрессовой реакцией на острое хирургическое заболевание.

Динамическую оценку функционального состояния свертывающей системы крови осуществляли на основе анализа некоторых показателей гемостазиограммы. Первичный гемостаз определяли, оценивая количество тромбоцитов, плазменный (вторичный) гемостаз – посредством исследования уровней антитромбина III, фибриногена и Д-димеров. Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 1. Некоторые показатели общего и биохимического анализа крови в динамике

Table 1. Some indices of the general and biochemical analysis of blood in dynamics

Показатель, Ме (25-й; 75-й процентиля)	Сроки исследования	Группа ОКТ (n = 63)	Группа ОП (n = 59)	Группа КТ (n = 20)
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1-е сутки	12,44 (9,13; 14,94)	10,50 (8,48; 13,94)	11,54 (10,11; 15,73)
	3-и сутки	7,74 (6,50; 9,48) [^]	7,26 (5,66; 9,30) [^]	6,78 (5,80; 8,80) [^]
	6-е сутки	7,53 (6,58; 9,90) [^]	6,41 (5,36; 9,06) [^]	6,52 (4,26; 9,34) [^]
Гемоглобин, г/л	1-е сутки	145 (138,8; 150)	141 (129; 150,5)	146 (141; 151)
	3-и сутки	135 (125,5; 144)	131 (123; 139)	140,5 (136,2; 145)
	6-е сутки	136 (126; 143,8)	130 (123; 142)	139 (128,5; 147,2)
Мочевина, ммоль/л	1-е сутки	5,85 (4,55; 7,83)	6,185 (4,29; 6,86)	6,37 (5,22; 7,68)
	3-и сутки	5,33 (4,65; 6,77)	5,43 (4,48; 7,855)	5,62 (4,07; 7,12)
	6-е сутки	5,56 (4,56; 6,75)	5,25 (4,19; 7,03)	4,63 (3,83; 6,23)
Гликемия, ммоль/л	1-е сутки	6,85 (5,86; 7,972)	7,10 (6,33; 8,28)	5,80 (5,14; 7,06)
	3-и сутки	5,32 (4,86; 6,40)	5,46 (4,54; 6,87)	4,98 (4,42; 5,42)
	6-е сутки	5,42 (4,94; 6,17)	5,15 (4,55; 6,25)	4,89 (4,70; 5,39)
Амилаза, ЕД	1-е сутки	40,48 (30,34; 49,3)	38,33 (29,67; 54,54)	40,83 (33,49; 83,13)
	3-и сутки	33,24 (27,84; 41,42)	34,31 (26,47; 52,69)	46,81 (36,52; 63,6)
	6-е сутки	39,39 (31,81; 58,21)	39,2 (28,38; 47,63)	51,89 (40,25; 54,65)
Креатинин, мкмоль/л	1-е сутки	88,35 (79,27; 104,7)	85,51 (76,65; 99,87)	85,71 (77,03; 121,1)
	3-и сутки	93,47 (84,21; 101)	91,24 (83,74; 105)	89,56 (82,02; 112,5)
	6-е сутки	93,25 (81,2; 101,9)	91,86 (79,65; 99,7)	120,3 (99,38; 131,4)

Примечание. [^] – достоверность различия внутригрупповых показателей по сравнению с показателем в 1-е сутки при $p < 0,05$.

Таблица 2. Некоторые показатели первичного и вторичного гемостаза

Table 2. Some indices of primary and secondary hemostasis

Показатель, Ме (25-й; 75-й процентиля)	Сроки исследования	Группа ОКТ (n = 63)	Группа ОП (n = 59)	Группа КТ (n = 20)
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1-е сутки	226,5 (183,0; 187,0)	227,0 (198,0; 255,0)	238,0 (223,0; 282,0)
	6-е сутки	235,0 (182,0; 318,0)	248,0 (223,0; 282,0) [^]	247,0 (218,0; 277,0)
Антитромбин III, %	1-е сутки	103,3 (84,6; 105,3)	82,4 (71,5; 101,8)	94,2 (78,5; 116,3)
	6-е сутки	88,3 (81,6; 99,9)	84,9 (77,4; 99,6)	90,6 (79,2; 128,8)
Д-димеры, нг/мл	1-е сутки	193,0 (131,0; 356,0)	212,0 (147,0; 811,0)	213,0 (112,0; 302,0)
	6-е сутки	201,0 (153,0; 433,0)	257,0 (119,0; 633,0)	215,0 (127,5; 291,0)
Фибриноген, г/л	1-е сутки	3,4 (2,3; 4,7)	3,5 (2,5; 4,6)	3,5 (2,9; 4,4)
	6-е сутки	4,6 (3,6; 5,8) [^]	4,6 (3,6; 5,2)	4,0 (3,2; 5,1)

Примечание. [^] – достоверность различия внутригрупповых показателей по сравнению с показателем в 1-е сутки при $p < 0,05$.

При оценке первичного гемостаза отклонения уровня тромбоцитов от референтных значений в исследуемых группах не выявлено. Отмечался значимый прирост тромбоцитов у пациентов группы сравнения 1 на 6-е сутки после госпитализации в сравнении с исходными данными. Антитромбин III, оказывающий основное антикоагуляционное действие на процессы свертывания крови, имел более низкие значения у пациентов, не получавших кардиопротективную терапию, но выявленные различия не были достоверными. Наряду с этим концентрация Д-димеров в той же группе пациентов была наиболее высокой, но статистически значимого различия с показателями основной группы не отмечалось. Уровень фибриногена имел тенденцию к нарастанию у пациентов во всех группах, но статистически достоверный прирост зарегистрирован только у пациентов основной группы исследования к 6-м суткам наблюдения. Значения медианы фибриногена к 6-м суткам превышало референтные значения у пациентов основной группы и группы сравнения 1.

Результаты сравнительного анализа реологических показателей пациентов основной и контрольной (без острого холецистита) групп представлены в табл. 3.

Таблица 3. Реологические показатели крови и плазмы у пациентов с острым калькулезным холециститом

Table 3. Rheological indices of blood and plasma of patients with acute calculous cholecystitis

Показатель	Основная группа (n = 25)	Контрольная группа (n = 20)
η	$3,42 \pm 0,14^*$	$4,40 \pm 0,4$
T_k , у. е.	$0,77 \pm 0,02^*$	$0,66 \pm 0,20$
I_a , у. е.	$0,95 \pm 0,01$	$0,98 \pm 0,2$
η	$1,44 \pm 0,03^*$	$1,60 \pm 0,20$

Примечание. η_i – гидродинамическая вязкость крови, $\eta_{пл}$ – вязкость плазмы крови; T_k – индекс ригидности эритроцитов; I_a – индекс агрегации эритроцитов; * – достоверность различия показателей при $p < 0,05$.

Установлено, что показатели гидродинамической вязкости крови, вязкости плазмы у пациентов основной группы имели более низкие значения, чем у пациентов группы контроля, в то время как индекс ригидности эритроцитов превышал значения, полученные в группе контроля. Таким образом, у пациентов основной группы в момент госпитализации показатели вязкости крови и плазмы не имели патологических сдвигов в сторону повышенной вязкости. Индекс ригидности эритроцитов значимо превышал контрольные значения, что могло ухудшать капиллярный кровоток у пациентов с обострением холецистита [9]. Далее проводилось сравнение реологических показателей пациентов основной группы в момент госпитализации и через 30 ± 5 сут после выполненной холецистэктомии. Полученные результаты представлены в табл. 4.

По результатам наблюдения установлено статистически значимое повышение показателя вязкости крови и плазмы, а также тенденция к лучшей деформируемости эритроцитов у пациентов через месяц после холецистэктомии.

Результаты оценки биологических маркеров сердечно-сосудистого риска представлены в табл. 5.

Таблица 5. Динамика биологических маркеров сердечно-сосудистого риска у пациентов основной группы до операции (визит 1) и через месяц после холецистэктомии (визит 2)

Table 5. Dynamics of the biological markers of cardiovascular risk of the main-group patients after operation (visit 1) and in a month after cholecystectomy (visit 2)

Показатель, Ме (25-й; 75-й процентиля)	Визит 1 (n = 40)	Визит 2 (n = 40)
ВЧСРБ, мг/л	9,6 (3,8; 15)	1,6 (0,88; 3,56)*
Гомоцистеин, мкмоль/л	12,6 (8,6; 16,3)	14,9 (12,9; 19,2)*
Аполипопротеин β , мг/дл	64,4 (30; 118)	30,1 (24,6; 89)
sVCAM-1, нг/мл	720 (610; 915)	875 (725; 1170)*
ММР-9, нг/мл	119,2 (116; 1430)	108,5 (84,4; 575)*
NTproBNP, пг/мл	40 (22; 66)	40 (30; 80)
ICAM-1, нг/мл	420 (298; 482)	434,5 (340; 580)
ИЛ-6, пг/мл	20 (4; 46)	2,5 (2; 4)*
LpPLA2, нг/мл	290 (210; 440)	260 (190; 392)

Примечание. ВЧСРБ – высокочувствительный СРБ, sVCAM-1 – сосудисто-клеточная молекула адгезии, ICAM-1 – межклеточная молекула адгезии-1, ММР-9 – матриксная металлопротеиназа-9, ИЛ-6 – интерлейкин-6, LpPLA2 – липопротеин-связанная фосфолипаза 2; * – достоверность различия показателей при $p < 0,05$.

В момент госпитализации пациенты с острым калькулезным холециститом имели более высокие уровни ВЧСРБ, ИЛ-6, ММР-9. К концу 30-дневного амбулаторного наблюдения у пациентов после холецистэктомии уровни ВЧСРБ, ММР-9, ИЛ-6 снизились, в то время как концентрация факторов риска атеротромбоза и эндотелиальной дисфункции (гомоцистеин, sVCAM-1) повысилась.

Таблица 4. Динамика реологических показателей у пациентов основной группы до операции (визит 1) и через месяц после холецистэктомии (визит 2)

Table 4. Dynamics of the rheological indices of the patients of the main group before operation (visit 1) and in a month after cholecystectomy (visit 2)

Показатель	Визит 1 (n = 25)	Визит 2 (n = 25)
η	$3,42 \pm 0,14$	$3,78 \pm 0,09^*$
T_k , у. е.	$0,77 \pm 0,02$	$0,71 \pm 0,03$
I_a , у. е.	$0,95 \pm 0,01$	$0,96 \pm 0,01$
η	$1,44 \pm 0,03$	$1,64 \pm 0,07^{**}$

Примечание. η_i – гидродинамическая вязкость крови; $\eta_{пл}$ – вязкость плазмы крови; T_k – индекс ригидности эритроцитов; I_a – индекс агрегации эритроцитов. Достоверность различия показателей: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$.

Наличие более высоких уровней ВЧСРБ, ИЛ-6 и MMP-9 до выполнения холецистэктомии свидетельствовало о высоком воспалительном ответе на обострение калькулезного холецистита. Учитывая негативное влияние данных биомаркеров на стабильность атеросклеротической бляшки, агрегационную функцию тромбоцитов и сердечно-сосудистый риск в целом [2, 10], данные изменения в биологическом профиле могли приводить к обострению и усугублению течения сердечно-сосудистой патологии у пациентов с острым холециститом. Спустя месяц после выполнения холецистэктомии данные биомаркеры достоверно снижались, что свидетельствовало о положительном влиянии холецистэктомии на системный воспалительный ответ и суммарный сердечно-сосудистый риск.

Оценка динамики биохимических маркеров эндотелиальной дисфункции (sVCAM-1) и атеротромбоза (гомоцистеин) продемонстрировала значимое повышение их концентрации к концу первого месяца после холецистэктомии, что могло свидетельствовать о сохраняющемся повреждении интимы сосудов с активацией эндотелиальных клеток. Согласно литературным данным, гомоцистеин в крови легко подвергается процессу окисления, в результате которого освобождаются свободные радикалы в виде супероксида кислорода и перекиси водорода, напрямую повреждающие эндотелий [2]. Вследствие повреждения эндотелия развивались микроциркуляторные расстройства, которые усугублялись присутствием более ригидных эритроцитов. Показатель дисфункции левого желудочка (NTproBNP) не изменялся в послеоперационном периоде, что свидетельствовало об отсутствии влияния холецистэктомии на проявления синдрома сердечной недостаточности у данной категории пациентов. Медиана показателя дисфункции миокарда находилась в нормальном референтном диапазоне, что указывало на отсутствие систоло-диастолической перегрузки миокарда [2].

По данным некоторых источников, LpPLA2 рассматривается как независимый фактор риска разрыва бляшки и атеротромботических событий [10, 11]. У пациентов основной группы исследования достоверные изменения данного маркера за период наблюдения отсутствовали.

Результаты динамической оценки уровня биологических маркеров сердечно-сосудистого риска у пациентов группы сравнения 1 представлены в табл. 6.

Таблица 6. Динамика биологических маркеров сердечно-сосудистого риска у пациентов группы сравнения 1 до операции (визит 1) и через месяц после холецистэктомии (визит 2)

Table 6. Dynamics of the biological markers of cardiovascular risk of the patients of comparison group 1 before operation (visit 1) and in a month after cholecystectomy (visit 2)

Показатель, Ме (25-й; 75-й процентиля)	Визит 1 (n = 40)	Визит 2 (n = 40)
ВЧСРБ, мг/л	23,7 (5,6; 15,5)	3,06 (1,38; 4,74)*
Гомоцистеин, мкмоль/л	11,25 (6,85; 14,10)	19,4 (13,7; 22,2)*
Аполипопротеин β, мг/дл	41,6 (32; 130)	89,1 (27,0; 125,0)
sVCAM-1, нг/мл	750,2 (425; 817)	883 (705; 1130)*
MMP-9, нг/мл	675 (117; 1420)	419,7 (98,8; 670,0)
NTproBNP, пг/мл	138,67 (22,00; 56,60)	52,2 (24,0; 40,0)
ICAM-1, нг/мл	438,9 (232,5; 569,0)	467,7 (320,0; 576,0)
ИЛ-6, пг/мл	78,05 (7,30; 73,25)	3,6 (2,0; 3,6)*
LpPLA2, нг/мл	350,78 (245,00; 454,00)	335,5 (230,0; 440,0)

Примечание. * – достоверность различия показателей при $p < 0,05$.

У пациентов после холецистэктомии, не получавших кардиопротективную терапию, также наблюдалось достоверное снижение воспалительного ответа в результате более низких концентраций ВЧСРБ и ИЛ-6 в крови, определенных во время второго визита. При этом уровни гомоцистеина и сосудисто-клеточных молекул адгезии повышались, увеличивая риск неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. Несмотря на тенденцию к снижению концентраций MMP-9 и LpPLA2 к концу 30-х суток наблюдения, достоверных изменений не отмечалось, что свидетельствует о возможной дестабилизации атеросклеротических бляшек у пациентов из группы ОП в отдаленном послеоперационном периоде. Уровень натрийуретического гормона N-концевого полипептида в динамике снизился, но не достиг статистически значимой разницы.

Т а б л и ц а 7. Динамика биологических маркеров сердечно-сосудистого риска у пациентов группы сравнения 2 при госпитализации (визит 1) и через месяц после выписки (визит 2)
 T a b l e 7. Dynamics of the biological markers of cardiovascular risk of the patients of comparison group 2 at hospitalization (visit 1) and in a month after discharge from hospital (visit 2)

Показатель, Ме (25-й; 75-й процентиля)	Визит 1 (n = 20)	Визит 2 (n = 20)
ВЧСРБ, мг/л	21,11 (4,90; 18,20)	5,94 (1,87; 9,63)
Гомоцистеин, мкмоль/л	9,04 (6,80; 10,00)	15,51 (14,10; 18,25)*
Аполипопротеин β, мг/дл	98,50 (70,00; 131,00)	84,10 (57,00; 115,00)
sVCAM-1, нг/мл	809,09 (420; 1010)	780,63 (635,00; 977,50)
ММР-9, нг/мл	991,36 (690; 1450)	800,90 (465,00; 1310,00)
NTproBNP, пг/мл	78,27 (38,00; 123,00)	102,00 (33,50; 120,00)
ICAM-1, нг/мл	564,27 (280,00; 920,00)	277,75 (240,00; 306,00)
ИЛ-6, пг/мл	105,25 (5,10; 298,05)	3,35 (2,55; 4,45)*
LpPLA2, нг/мл	207,45 (152,00; 234,00)	220,50 (140,00; 259,00)

П р и м е ч а н и е. * – достоверность различия показателей при $p < 0,05$.

Результаты оценки биологических маркеров сердечно-сосудистого риска у пациентов из группы сравнения 2 представлены в табл. 7.

У пациентов, которым не выполнялась холецистэктомия, установлено достоверное снижение уровня ИЛ-6. Содержание ВЧСРБ продолжало оставаться высоким, как и у остальных маркеров эндотелиальной дисфункции и атеротромбоза (ICAM-1, ММР-9, LpPLA2). Сердечно-сосудистый риск у пациентов данной группы дополнительно повышал нарастающий уровень гомоцистеина, который по аналогии с таковым у пациентов других групп имел статистически значимый прирост к моменту второго визита. Медиана концентрации NTproBNP оставалась неизменной на протяжении наблюдения.

Результаты сравнения концентраций биомаркеров кардиоваскулярного риска между группами пациентов представлены в табл. 8.

Т а б л и ц а 8. Сравнение концентраций биологических маркеров сердечно-сосудистого риска у пациентов с острым калькулезным холециститом при поступлении в стационар
 T a b l e 8. Comparison of the concentrations of the biological markers of cardiovascular risk of patients with acute calculous cholecystitis on presentation to hospital

Показатель, Ме (25-й; 75-й процентиля)	Группа ОКТ (n = 40)	Группа ОП (n = 40)	Группа КТ (n = 20)
ВЧСРБ, мг/л	9,6 (3,8; 15)	23,7 (5,6; 15,5)	21,11 (4,90; 18,20)
Гомоцистеин, мкмоль/л	12,6 (8,6; 16,3)	11,25 (6,85; 14,10)*	9,04 (6,80; 10,00)*
Аполипопротеин β, мг/дл	64,4 (30; 118)	41,59 (32; 130)	98,50 (70,00; 131,00)
sVCAM-1, нг/мл	720 (610; 915)	750,25 (425; 817)*	809,09 (420; 1010)
ММР-9, нг/мл	119,2 (116; 1430)	675,03 (117; 1420)	991,36 (690; 1450)
NTproBNP, пг/мл	40 (22; 66)	138,67 (22,00; 56,6)	78,27 (38,00; 123,00)
ICAM-1, нг/мл	420 (298; 482)	438,90 (232,50; 569,00)	564,27 (280,00; 920,00)
ИЛ-6, пг/мл	20 (4; 46)	78,05 (7,30; 73,25)	105,25 (5,10; 298,05)
LpPLA2, нг/мл	290 (210; 440)	350,78 (245,00; 454,00)	207,45 (152,00; 234,00)*

П р и м е ч а н и е. * – достоверность различия показателей в сравнении с пациентами основной группы при $p < 0,05$.

У пациентов основной группы выявлены самые высокие уровни гомоцистеина, в то время как уровень сосудисто-клеточной молекулы адгезии был ниже, чем у пациентов группы сравнения 1. В основной группе также установлена более высокая концентрация LpPLA2 в сравнении с показателями группы сравнения 2.

Сравнительный анализ концентраций биомаркеров сердечно-сосудистого риска во время второго визита представлен в табл. 9.

Применение кардиопротективной терапии у пациентов основной группы статистически значимо не повлияло на концентрацию основных маркеров миокардиального, оксидативного стресса,

Таблица 9. Сравнение концентраций биологических маркеров сердечно-сосудистого риска у пациентов во время второго визита

Table 9. Comparison of the concentrations of the biological markers of cardiovascular risk of patients during visit 2

Показатель, Ме (25-й; 75-й процентиля)	Группа ОКТ (n = 40)	Группа ОП (n = 40)	Группа КТ (n = 20)
ВЧСРБ, мг/л	1,6 (0,88; 3,56)	3,06 (1,38; 4,74)	5,94 (1,87; 9,63)*
Гомоцистеин, мкмоль/л	14,9 (12,9; 19,2)	19,4 (13,70; 22,20)	15,51 (14,10; 18,25)
Аполипопротеин β, мг/дл	30,1 (24,6; 89)	89,1 (27,00; 125,00)	84,10 (57,00; 115,00)
sVCAM-1, нг/мл	875 (725; 1170)	883,81 (705; 1130)	780,63 (635,00; 977,50)
ММР-9, нг/мл	108,5 (84,4; 575)	419,72 (98,80; 670,00)	800,90 (465,00; 1310,00)*
NTproBNP, пг/мл	40 (30; 80)	52,19 (24,00; 40,00)	102,00 (33,50; 120,00)
ICAM-1, нг/мл	434,5 (340; 580)	467,65 (320,00; 576,00)	277,75 (240,00; 306,00)*
ИЛ-6, пг/мл	2,5 (2; 4)	3,58 (2,00; 3,60)	3,35 (2,55; 4,45)
LpPLA2, нг/мл	260 (190; 392)	335,46 (230,00; 440,00)	220,50 (140,00; 259,00)

Примечание. * – достоверность различия показателей в сравнении с пациентами основной группы при $p < 0,05$.

эндотелиальной дисфункции и атеротромбоза. Полученные результаты свидетельствуют о тенденции к снижению активности процессов, способствующих дестабилизации атеросклеротической бляшки, дисфункции эндотелия и атеротромбоза в послеоперационном периоде. Выбор консервативной тактики лечения острого калькулезного холецистита сопровождался достоверно более высокими концентрациями ВЧСРБ, ММР-9 и более низкими уровнями молекулы межклеточной адгезии ICAM-1.

Заключение. У пациентов с острым калькулезным холециститом в отдаленном послеоперационном периоде выявлено ухудшение реологических свойств крови и плазмы, отсутствие положительной динамики изменения показателя эритроцитарной эластичности. Через месяц после холецистэктомии установлено повышение маркеров атеротромбоза (гомоцистеина) и эндотелиальной дисфункции (sVCAM-1), снижение уровня С-реактивного белка, интерлейкина-6, матриксной металлопротеиназы-9. Выявлено, что консервативное ведение пациентов с острым калькулезным холециститом сопровождается более высокими концентрациями биомаркеров воспаления и атеротромбоза, чем у пациентов, которым выполнялась срочная холецистэктомия.

Список использованных источников

1. Кардиоваскулярный риск у пациентов с патологией гепатобилиарной системы / Н. П. Митьковская [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2015. – № 1. – С. 90–94.
2. Европейские клинические рекомендации по профилактике сердечно-сосудистых заболеваний (пересмотр 2012 г.): пер. с англ. / Джо Перк [и др.] // Рос. кардиол. журн. – 2012. – № 4. – С. 1–84.
3. Perioperative cardiovascular mortality in noncardiac surgery: validation of the Lee cardiac risk index / E. Boersma [et al.] // Am. J. Med. – 2005. – Vol. 118. – P. 1134–1141.
4. The Surgical Mortality Probability Model: derivation and validation of a simple risk prediction rule for noncardiac surgery / L. G. Glance [et al.] // Ann. Surg. – 2012. – Vol. 255, N 4. – P. 696–702.
5. Meta-analysis of secure randomised controlled trials of beta-blockade to prevent peri-operative death in noncardiac surgery / S. Bouri [et al.] // Heart. – 2014. – Vol. 100. – P. 456–464.
6. Peri-operative cardiac events in patients undergoing noncardiac surgery: a review of the magnitude of the problem, the pathophysiology of the events and methods to estimate and communicate risk / P. J. Devereaux [et al.] // CMAJ. – 2005. – Vol. 173. – P. 627–634.
7. Прогнозирование и профилактика кардиальных осложнений внесердечных хирургических вмешательств: нац. рекомендации / разраб. Ком. экспертов Всерос. науч. о-ва кардиологов [Ю. В. Щукин и др.]. – М., 2011. – 28 с.
8. 2014 ACC/AHA Guideline on Perioperative Cardiovascular Evaluation and Management of Patients Undergoing Noncardiac Surgery: Executive Summary / Lee A. Fleisher [et al.] // Circulation. – 2014. – Vol. 130. – P. 2215–2245.
9. Изменение реологических свойств крови и осмотической резистентности эритроцитов при активации свободнорадикальных процессов / Е. В. Ройтман [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2006. – № 4. – С. 25–31.
10. Акимцева, Е. А. Маркеры эндотелиальной дисфункции как предикторы развития ретромбозов коронарных стентов / Е. А. Акимцева, Е. Ф. Котовщикова // Фунд. исслед. – 2012. – № 8. – С. 271–273.
11. Inverse correlation between coronary blood flow velocity and sICAM-1 level observed in ischemic heart disease patients / J. Bencze [et al.] // Atherosclerosis. – 2006. – Vol. 188. – P. 142–149.

References

1. Mitkovskaya N. P., Tretyak S. I., Grigorenko E. A., Gerasimenok D. S. Cardiovascular risk in patients with pathology of the hepatobiliary system. *Vestsi Natsyianal'nai akademii navuk Belarusi. Seryia medytsynskikh navuk* = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medicine series, 2015, no. 1, pp. 90–94. (in Russian).
2. Joep Perk, Guy De Backer, Helmut Gohlke, Ian Graham, Tjelko Reiner, Monique Verschuren, Christian Albus, Pascale Benlian, Gudrun Boysen, Renata Cifkova, Christi Deaton, Shah Ebrahim, Miles Fisher, Giuseppe Germano, Richard Hobbs, Arno Hoes. European clinical guidelines for the prevention of cardiovascular diseases (2012 revision): translation from English. *Rossiiskii kardiologicheskii zhurnal* [Russian Cardiology Journal], 2012, no. 4, pp. 1–84. (in Russian).
3. Boersma E., Kertai M. D., Schouten O., Bax J. J., Noordzij P., Steyerberg E. W., Schinkel A. F., van Santen M., Simoons M. L., Thomson I. R., Klein J., van Urk H., Poldermans D. Perioperative cardiovascular mortality in noncardiac surgery: validation of the Lee cardiac risk index. *American Journal of Medicine*, 2005, vol. 118, pp. 1134–1141. doi: 10.1016/j.amjmed.2005.01.064.
4. Gance L. G., Lustik S. J., Hannan E. L., Osler T. M., Mukamel D. B., Qian F., Dick A. W. The Surgical Mortality Probability Model: derivation and validation of a simple risk prediction rule for noncardiac surgery. *Annals of Surgery*, 2012, vol. 255, no. 4, pp. 696–702. doi: 10.1097/SLA.0b013e31824b45af.
5. Bouri S., Shun-Shin M. J., Cole G. D., Mayet J., Francis D. P. Meta-analysis of secure randomised controlled trials of beta-blockade to prevent peri-operative death in noncardiac surgery. *Heart*, 2014, vol. 100, pp. 456–464.
6. Devereaux P. J., Goldman L., Cook D. J., Gilbert K., Leslie K., Guyatt G. H. Peri-operative cardiac events in patients undergoing noncardiac surgery: a review of the magnitude of the problem, the pathophysiology of the events and methods to estimate and communicate risk. *Canadian Medical Association Journal*, 2005, vol. 173, pp. 627–634.
7. Shchukin Yu. V., Khokhlunov S. M., Surkova E. A., Duplyakov D. V., Vachev A. N., Germanov A. V., Zemlyanova M. E., Kruglov V. N., Kuz'min V. P., Lyas M. N., Pavlova G. A., Pavlova T. V., Polyakov V. P., Ryabov A. E., Skuratova M. A., CHomahidze P. Sh. *Forecasting and prevention of cardiac complications of out-of-cardiac surgeries: national recommendations*. All-Russian Scientific Society of Cardiology. Moscow, 2011. 28 p. (in Russian).
8. Fleisher L. A., Fleischmann K. E., Auerbach A. D., Barnason S. A., Beckman J. A., Bozkurt B., Davila-Roman V. G., Gerhard-Herman M. D., Holly T. A., Kane G. C., Marine J. E., Nelson M. T., Spencer C. C., Thompson A., Ting H. H., Uretsky B. F., Wijeyesundera D. N. 2014 ACC/AHA Guideline on Perioperative Cardiovascular Evaluation and Management of Patients Undergoing Noncardiac Surgery: Executive Summary. *Circulation*, 2014, vol. 130, pp. 2215–2245. doi: 10.1161/CIR.000000000000105.
9. Roitman E. V., Dementeva I. I., Azizova O. A. Change in rheological properties of blood and osmotic resistance of erythrocytes during activation of free radical processes. *Tromboz, gemostaz i reologiya* [Thrombosis, Hemostasis and Rheology], 2006, no. 4, pp. 25–31. (in Russian).
10. Akimtseva E. A., Kotovshchikova E. F. Markers of endothelial dysfunction as predictors of the development of rethromboses of coronary stents. *Fundamental'nye issledovaniia* [Fundamental Research], 2012, no. 8, pp. 271–273. (in Russian).
11. Bencze J., Kiss R. G., Toth-Zsomboki E., Vargova K., Kerecsen G., Korda A., Molnar F., Preda I. Inverse correlation between coronary blood flow velocity and sICAM-1 level observed in ischemic heart disease patients. *Atherosclerosis*, 2006, vol. 188, pp. 142–149.

Информация об авторах

Митьковская Наталья Павловна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mitkovskaya1@mail.ru.

Третьяк Станислав Иванович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: surg2@bsmu.by.

Герасименко Дмитрий Станиславович – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: modimu@tut.by.

Картун Людмила Владимировна – ст. науч. сотрудник. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: lbmi@tut.by.

Мансуров Валерий Анатольевич – канд. техн. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mansurov@tut.by.

Григоренко Елена Александровна – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alegri@tut.by.

Information about the authors

Natalya P. Mitkovskaya – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskiy Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mitkovskaya1@mail.ru.

Stanislav I. Tretyak – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskiy Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: surg2@bsmu.by.

Dmitrii S. Gerasimenok – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskiy Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: modimu@tut.by.

Lyudmila V. Kartun – Senior researcher. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskiy Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lbmi@tut.by.

Valerii A. Mansurov – Ph. D. (Tech.), Assistant Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskiy Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mansurov@tut.by.

Elena A. Grigorenko – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskiy Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alegri@tut.by.

Ф. И. Висмонт, В. В. Лобанова

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

УЧАСТИЕ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ И КЛЕТОК КУПФЕРА В ПРОЦЕССАХ ДЕТОКСИКАЦИИ И РАЗВИТИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА У КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭТАНОЛОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Аннотация. Известно, что заболеваемость и смертность при регулярном употреблении алкогольных напитков связаны с токсическим воздействием этанола на важнейшие органы человека и в первую очередь на печень. К настоящему времени накопилось достаточное количество фактов, свидетельствующих об участии клеток Купфера (КК) и аргиназы печени в процессах жизнедеятельности в норме и при патологии.

Целью исследования было выяснение значимости аргиназы печени и КК в процессах детоксикации и развития оксидативного стресса у крыс при хронической этаноловой интоксикации.

С использованием современных физиологических, биохимических методов исследования и фармакологического подхода в опытах на крысах установлено, что хроническая этаноловая интоксикация приводит к снижению температуры тела, активности аргиназы печени и повышению уровня «средних молекул», $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$, содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме, степени токсичности крови, активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы, а также к увеличению продолжительности наркотического сна. В условиях угнетения аргиназы печени N° -гидрокси-нор-L-аргинином действие этанола сопровождается более значимым угнетением детоксикационной функции печени, повышением содержания $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в плазме, продуктов ПОЛ в крови и печени, понижением температуры тела. Депрессия КК гадолиния хлоридом ослабляет токсический эффект этанола на печень, а также приводит к развитию характерных изменений активности аргиназы печени, процессов детоксикации, ПОЛ и температуры тела у крыс с хронической этаноловой интоксикацией.

Ключевые слова: хроническая этаноловая интоксикация, детоксикация, аргиназа печени, перекисное окисление липидов, клетки Купфера

Для цитирования: Висмонт, Ф. И. Участие аргиназы печени и клеток Купфера в процессах детоксикации и развития оксидативного стресса у крыс при хронической этаноловой интоксикации / Ф. И. Висмонт, В. В. Лобанова // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 3. – С. 15–21.

F. I. Vismont, V. V. Lobanova

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

PARTICIPATION OF LIVER ARGINASE AND KUPFFER'S CELLS IN THE PROCESSES OF DETOXICATION AND DEVELOPMENT OF THE OXYDATIVE STRESS IN RATS WITH CHRONIC ETHANOL INTOXICATION

Abstract. Alcohol pathology is one of the most important problems of modern medicine. It is known that a high rate of morbidity and mortality caused by a regular use of alcoholic beverages is associated with toxic effects of ethanol on the most important human organs, primarily liver. To date, a sufficient number of facts have been accumulated, indicating the significance of Kupffer's cells and liver arginase in the processes of life in normal and pathological conditions. The aim of the present investigation was to determine the liver arginase activity and the significance of Kupffer's cells in the processes of detoxication and development of the oxydative stress in rats with chronic ethanol intoxication.

In experiments on rats it was established that chronic ethanol intoxication is accompanied by a decrease in body temperature, liver arginase activity and by an increase in the level of «middle molecules», $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$, lipide peroxidation products in plasma, the extent of blood toxicity, the activity of plasma alanineaminotransferase and aspartateaminotransferase, as well as in the duration of narcotic sleep. In the conditions of liver arginase depression by N° -hydroxy-nor-L-arginine, chronic alcoholization is accompanied by a more significant inhibition of the liver detoxication function, an increase in the content of $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ in plasma, lipid peroxidation products in the blood and liver and by a decrease in body temperature. Inhibition of the activity of Kupffer's cells by gadolinium chloride reduces the toxic effect of ethanol on the liver, as well as on typical changes in the liver arginase activity, detoxification processes, and body temperature in rats with chronic ethanol intoxication.

Keywords: chronic ethanol intoxication, detoxification, lipide peroxidation products, liver arginase, Kupffer's cells

For citation: Vismont F. I., Lobanova V. V. Participation of liver arginase and Kupffer's cells in the processes of detoxication and development of the oxydative stress in rats with chronic ethanol intoxication. *Vesti Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 15–21 (in Russian).

Введение. Современная медицина стоит перед проблемой неуклонного роста алкогольной патологии, приводящей к сокращению продолжительности жизни и отрицательно сказывающейся на состоянии здоровья.

Как известно, заболеваемость и смертность при регулярном потреблении алкогольных напитков связаны с токсическим воздействием этанола на важнейшие органы человека и в первую очередь на печень [1], а гепатоциты и клетки Купфера (КК) играют важную роль в процессах детоксикации [2–4].

Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что токсические метаболиты этанола, активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), развитие оксидативного (окислительного) стресса вносят весомый вклад в поражение печени, вызванное действием этанола [1, 5].

К настоящему времени накопилось достаточное количество фактов, свидетельствующих об участии КК и аргиназы печени в процессах жизнедеятельности в норме и при патологии [2, 6–8]. Выявлено, что активность аргиназы печени снижается при остром токсическом ее поражении [9], а также при острой алкогольной интоксикации [10]. Степень выраженности цитолитического синдрома, как показано рядом авторов, напрямую связана с реактивностью КК [2, 11]. Показана значимость КК в оксидативном стрессе [6] и особенно в избыточной продукции различных активных цитотоксических веществ, в частности монооксида азота (NO) [11, 12]. Учитывая, что активность аргиназы печени лимитирует доступность L-аргинина для индуцибельной NO-синтетазы [12, 13], были основания полагать, что ее активность будет сказываться на синтезе NO, который играет важную роль в механизмах детоксикации, процессов ПОЛ и терморегуляции [11, 14].

Цель исследования – определить участие аргиназы печени и клеток Купфера в процессах детоксикации и развития оксидативного стресса у крыс при хронической этаноловой интоксикации.

Материалы и методы исследования. Опыты выполнены на 218 взрослых ненаркотизированных белых крысах-самцах массой 180–220 г.

В связи с тем что в литературе имеются данные о том, что у животных в течение суток происходят значительные колебания уровня ряда гормонов и биогенных аминов в крови, которые сопровождаются изменениями энергетического и пластического обмена, опыты проводили в строго определенное время (8–12 ч утра). Рацион крыс состоял из комбикорма КК-92/ПХЧ-5, количество которого определялось нормами кормления лабораторных животных [15]. Питьевой режим соответствовал принципу *ad libitum*.

Модель хронической алкогольной интоксикации воспроизводили на крысах путем ежедневного интрагастрального введения животным 30 %-ного раствора этанола (из расчета 3,5 г 92 %-ного этанола на 1 кг массы тела животного) в течение 60 сут. Селективную депрессию КК у животных вызывали путем внутрибрюшинного введения водного раствора гадолиния хлорида ($GdCl_3$) в дозе 10 мг/кг [16]. Активность аргиназы в печени определяли спектрофотометрически [17]. Продукцию NO оценивали по суммарному уровню в плазме крови нитратов/нитритов (NO_3^- / NO_2^-) [18].

О детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), степени токсичности крови (СТК) и содержанию в плазме крови «средних молекул» (СМ). ПНС (гексенал 100 мг/кг, внутрибрюшинно) оценивали по времени нахождения животных в положении на боку (Д. В. Парк, 1973). Содержание в крови СМ определяли методом кислотно-этанольного осаждения, разработанным В. М. Моиним с соавт. [19], СТК – способом, предложенным О. А. Радьковой с соавт. [20]. О тяжести повреждения печени судили по активности в плазме крови аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ). Активность АлАТ и АсАТ в плазме крови определяли колориметрически с помощью динитрофенилгидразинового метода.

Активность процессов ПОЛ в крови и печени оценивали по содержанию в них таких продуктов, как малоновый диальдегид (МДА), диеновые конъюгаты (ДК), основания Шиффа (ОШ). Концентрацию МДА, ДК и ОШ определяли спектрофотометрическим методом (M. Mihra, M. Uchiyama [21], В. А. Костюк [22] и В. L. Fletcher с соавт. [23] соответственно).

Ректальную температуру измеряли электротермометром ТПЭМ-1. Забор крови и ткани печени у животных производили за возможно минимальное время после декапитации. Последнюю

осуществляли через 1 ч после последнего введения этанола (опыт) или физиологического раствора (контроль).

Все эксперименты выполнены в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными, а также с требованиями Директивы Европейского этического комитета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986 г. [24] и «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и иных научных целях» от 18.03.1986 г., ТКП 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 56 от 28.03.2008 г. [25].

Полученные данные обработаны статистически с использованием пакетов прикладного программного обеспечения Statsoft (USA) Statistica 8.0, Microsoft Office Excell 2000, Graph Pad Prism4. Различия между двумя независимыми группами по количественным показателям, распределение которых статистически значимо не отличалось от нормального, анализировали с использованием *t*-критерия Стьюдента в модификации Уэлча (Welch's test). Данные для количественных показателей представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего ($\bar{X} \pm S_x$), для качественных показателей – в виде процентов. Различия между экспериментальными группами считались достоверными при $p < 0,05$.

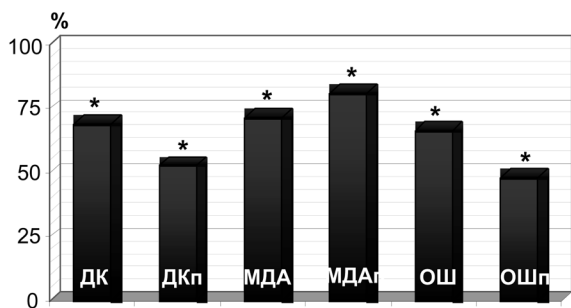
Результаты и их обсуждение. В опытах на крысах установлено, что ежедневное интрагастральное введение животным водного раствора этанола в течение 60 сут приводит к выраженным изменениям температуры тела, детоксикации, активности аргиназы печени, уровня $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ и активности трансаминаз в плазме крови. Ректальная температура через 60 сут от начала эксперимента снижалась на $1,1 \pm 0,14$ °C ($p < 0,05$, $n = 20$).

В ходе исследования установлено, что длительное интрагастральное введение этанола приводит к угнетению детоксикационной функции печени, что проявлялось повышением СТК на 57,8 % ($p < 0,05$, $n = 10$), уровня СМ в плазме крови на 38,5 % ($p < 0,05$, $n = 10$) и увеличением ПНС на 24,5 % ($p < 0,05$, $n = 7$). Содержание СМ в плазме крови, СТК и ПНС в контроле (ежедневное интрагастральное введение физраствора в течение 2 мес., $n = 10$) составило соответственно $0,69 \pm 0,012$ г/л, $1,3 \pm 0,11$ ед. и $27,8 \pm 3,22$ мин. Активность аргиназы печени в этих условиях снижалась на 54,7 % ($p < 0,05$, $n = 8$) и составляла $2,5 \pm 0,27$ мкмоль мочевины/г сырой ткани·ч. Установлено, что хроническая алкоголизация приводит к снижению в плазме крови концентрации общего белка до $56,6 \pm 1,5$ г/л (на 12,2 %, $p < 0,05$, $n = 8$). Содержание альбуминов снижалось до $13,5 \pm 1,1$ г/л (на 28,7 %, $p < 0,05$, $n = 8$). Активность АлАТ и АсАТ, важнейших показателей тяжести поражения печени, в крови у алкоголизированных животных повышалась по сравнению с соответствующим контролем на 488,5 % ($p < 0,05$, $n = 8$) и 196,3 % ($p < 0,05$, $n = 8$) и составляла $2,71 \pm 0,13$ и $1,77 \pm 0,16$ мккат/л соответственно.

Обнаружено, что действие этанола в организме у животных в течение 60 сут сопровождается повышением в плазме крови уровней ДК, МДА и ОШ на 39,3 % ($p < 0,05$, $n = 7$), 58,5 % ($p < 0,05$, $n = 8$) и 50,8 % ($p < 0,05$, $n = 7$) соответственно. В печени содержание ДК возрастало на 29,3 % ($p < 0,05$, $n = 7$), МДА – на 36,5 % ($p < 0,05$, $n = 7$), ОШ – на 23,3 % ($p < 0,05$, $n = 7$). У крыс контрольной группы (физраствор интрагастрально ежедневно в течение 60 сут, $n = 8$) содержание ДК, МДА и ОШ в плазме крови составляло соответственно $0,59 \pm 0,051$ D₂₃₃/мл, $0,71 \pm 0,058$ мкмоль/мл и $5,4 \pm 0,52$ ЕД/мл, а в печени – $14,5 \pm 1,38$ D₂₃₃/г ткани, $17,1 \pm 0,71$ мкмоль/г ткани и $136,4 \pm 13,5$ ЕД/г ткани.

Выявлено, что в условиях хронической этаноловой интоксикации в плазме крови животных изменяется концентрация $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ – конечных продуктов дегградации NO [13, 18]. Интрагастральное введение этанола через 60 сут алкоголизации приводило к повышению уровня $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в плазме крови крыс до $11,02 \pm 1,34$ мкмоль/л (на 79,1 %, $p < 0,01$, $n = 8$).

В опытах на алкоголизированных крысах установлено, что угнетение КК GdCl₃ ослабляет развитие характерных изменений активности аргиназы, детоксикационной функции печени, содержания продуктов ПОЛ в крови и печени животных, а также температуры тела на действие этанола. Так, температура тела у крыс, которым предварительно, за 12 ч до интрагастрального введения этанола, внутривентриально вводили 1,0 мл физраствора (1 раз в неделю в течение 60 сут), снижалась на 1,0 °C ($p < 0,05$, $n = 10$) по сравнению с контрольными животными (введение физраствора интрагастрально и внутривентриально), а у животных, которым до алкоголизации пред-



Изменение (в % по отношению к контролю) содержания ДК, МДА и ОШ в плазме крови и печени у крыс с хронической этаноловой интоксикацией в условиях депрессии КК ($GdCl_3$). * – изменения достоверны ($p < 0,05$) по отношению к контролю ($GdCl_3$ 10 мг/кг внутривнутрибрюшинно 1 раз в неделю и физраствор интрагастрально ежедневно в течение 60 сут ($n = 8$)); n – число животных

Changes (% with respect to control) in the content of diene conjugates (ДК), malonic dialdehyde (МДА), and Schiff bases (ОШ) in the blood of plasma and the liver of rats with chronic ethanol intoxication in the stress conditions of Kupfer's cells ($GdCl_3$). * – changes are reliable ($p < 0,05$) with respect to control ($GdCl_3$ 10 mg/kg abdominally once a week and normal saline intragastrally daily during 60 days ($n = 8$)); n – number of animals

брюшинно ингибитор КК $GdCl_3$ (10 мг/кг), сопровождается менее выраженными изменениями содержания продуктов ПОЛ в крови и печени животных (см. рисунок), а также менее значимым повышением уровней АлАТ, АсАТ, NO_3^-/NO_2^- в плазме крови и температуры тела.

Так, концентрация ДК в печени опытных животных была на 49,2 % ($p < 0,05$, $n = 8$), а в плазме крови на 35,5 % ($p < 0,05$, $n = 8$) меньше, чем у животных контрольной группы (внутрибрюшинное введение физраствора и хроническая алкоголизация, $n = 8$). Содержание МДА в печени в этих условиях было меньше на 24,1 % ($p < 0,05$, $n = 7$), а в плазме крови – на 29,7 % ($p < 0,05$, $n = 8$).

Уровни ОШ в печени и в плазме крови были ниже на 52,2 % ($p < 0,05$, $n = 7$) и 34,1 % ($p < 0,05$, $n = 8$) соответственно. Активность АлАТ, АсАТ и уровень NO_3^-/NO_2^- в плазме крови у животных опытной группы ($n = 9$) по сравнению с контрольными (внутрибрюшинное введение физраствора и хроническая алкоголизация, $n = 8$) были ниже на 65,5 % ($p < 0,05$), 42,3 % ($p < 0,05$) и 45,8 % ($p < 0,05$) и составили $1,21 \pm 0,05$ мккат/л, $1,07 \pm 0,10$ мккат/л и $5,05 \pm 0,53$ мкМоль/л соответственно. Отмечалось снижение температуры тела на $0,5 \pm 0,12$ °C ($p < 0,05$).

Установлено, что ежедневное внутривнутрибрюшинное введение в течение 2 недель крысам ингибитора аргиназы N^{ω} -гидрокси-нор-L-аргинина (nor-NOHA) фирмы BACHEM (Германия) в дозе 10 мг/кг [26] статистически значимо не сказывалось на температуре тела и приводило к снижению активности аргиназы печени на 70,8 % ($p < 0,05$, $n = 7$). В условиях депрессии аргиназы печени nor-NOHA действие этанола сопровождалось более значимым угнетением детоксикационной функции печени, повышением содержания NO_3^-/NO_2^- в плазме и продуктов ПОЛ в крови и печени, понижением температуры тела. Температура тела у крыс, подвергшихся хронической этаноловой интоксикации, снижалась на $1,2 \pm 0,16$ ($p < 0,01$, $n = 12$), а в условиях действия nor-NOHA – на $1,6 \pm 0,13$ °C ($p < 0,05$, $n = 8$). В плазме крови крыс с хронической алкогольной интоксикацией ($n = 8$), получавших nor-NOHA, содержание NO_3^-/NO_2^- , ДК и МДА по сравнению с их уровнем в контрольной группе животных (алкоголизация и внутривнутрибрюшинное введение физраствора, $n = 8$) было выше на 47,1 % ($p < 0,05$), 35,1 % ($p < 0,05$) и 29,8 % ($p < 0,05$) соответственно.

Выявлено, что ежедневное внутривнутрибрюшинное введение в течение 60 сут в организм крыс ($n = 8$) блокатора NO-синтазы метилового эфира N^G -нитро-L-аргинина (L-NAME) фирмы ACROS ORGANICS (США) в дозе 25 мг/кг (дозе, не влияющей на температуру тела) не приводит к достоверному изменению содержания основных продуктов ПОЛ в крови и печени.

варительно внутривнутрибрюшинно вводили $GdCl_3$ (10 мг/кг), – на 0,5 °C ($p < 0,05$, $n = 20$). Выявлено, что у алкоголизованных животных в условиях депрессии КК значения основных показателей печеночной детоксикации (уровень СМ в плазме крови, степень ее токсичности) были меньше по сравнению с контрольными (физраствор внутривнутрибрюшинно 1 раз в неделю в течение 60 сут и этанол интрагастрально ежедневно в течение 2 мес.) на 25,2 % ($p < 0,05$, $n = 9$) и 28,5 % ($p < 0,05$, $n = 9$) соответственно. ПНС у крыс в этих условиях уменьшалась по сравнению контролем на 27,1 % ($p < 0,05$, $n = 9$). Содержание СМ в плазме крови, СТК и ПНС у крыс в контроле (этанол интрагастрально ежедневно и физраствор внутривнутрибрюшинно 1 раз в неделю в течение 60 сут, $n = 7$) составило $1,13 \pm 0,029$ г/л, $2,8 \pm 0,32$ ед. и $35,4 \pm 3,68$ мин соответственно.

Установлено, что хроническая алкогольная интоксикация у крыс, которым предварительно, за 12 ч до интрагастрального введения этанола, вводили 1 раз в неделю в течение 60 сут внутривнутрибрюшинно ингибитор КК $GdCl_3$ (10 мг/кг), сопровождается менее выраженными изменениями содержания продуктов ПОЛ в крови и печени животных (см. рисунок), а также менее значимым повышением уровней АлАТ, АсАТ, NO_3^-/NO_2^- в плазме крови и температуры тела.

Устаноўлена, што дзейства этанола ў умовах падварытнага (за 30 мін да ітрагастральнага ўвядзення жывотным этанола ў тэчэнне 60 сут) ін'екцыі ў арганізм жывотным L-NAME вядзе да менш выражанага, чым у жывотных кантрольнай групы, угнетенню працэсаў дэтэксікацыі. ПНС, узровень СМ у плазме крыві і СТК у крыс опытнай групы, падвергнутых хронічнай алкаголізацыі, па сраўненню з аналагічнымі паказатэлямі ў жывотных кантрольнай групы (внутрыбрюшыннае ўвядзенне фізраствора і хронічная алкаголізацыя, $n = 8$) былі ніжэй на 27,1 % ($p < 0,05$, $n = 9$), 48,3 % ($p < 0,05$, $n = 8$) і 24,2 % ($p < 0,05$, $n = 8$) адпаведна, а змест альбуміна і агульнага белака – вышэй на 19,3 % ($p < 0,05$, $n = 7$) і 12,7 % ($p < 0,05$, $n = 7$). Актыўнасць АлАТ і АсАТ плазмы крыві крыс, падвергнутых хронічнай алкаголізацыі ў умовах дзейства ў арганізме жывотных блокатара NO-сінтэтазы, была ніжэй, чым у жывотных кантрольнай групы, на 37,5 % ($p < 0,05$, $n = 7$) і 48,8 % ($p < 0,05$, $n = 7$) адпаведна, а змест $\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$ – на 39,1 % ($p < 0,05$, $n = 7$).

Обнаружено, что хроническая этаноловая интоксикация у крыс ($n = 9$), предварительно получивших L-NAME, по сравнению с таковой у жывотных кантрольнай групы прыводзіць да менш значамага павышэння узрўня ДК, а імянна да змяншэння колькасці ДК ў печыні на 39,2 % ($p < 0,05$), а ў плазме крыві – на 28,6 % ($p < 0,05$). Концэнтраваннасць МДА ў печыні ў гэтых умовах зніжалася на 27,6 % ($p < 0,05$), ў плазме крыві – на 30,3 % ($p < 0,05$). Узровень ОШ зніжаўся ў печыні і ў плазме крыві адпаведна на 50,5 % ($p < 0,05$) і 36,7 % ($p < 0,05$).

Выяўленыя асабнасці змяненняў дэтэксікацыйнай функцыі печыні і працэсаў ПОЛ ў крыві і печыні, а такжэ узрўня $\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$ ў плазме крыві пры хронічнай алкагольнай інтэксікацыі як ў умовах функцыянальнай недастатковасці КК, так і пры дэпрэсіі аргіназы печыні даілі аснованія прадпалажыць, што актыўнасць аргіназы печыні і КК адрэдыляюць выражэннасць працэсаў дэтэксікацыі і аксыдатыўнага стрэса пры хронічнай алкагольнай інтэксікацыі.

Учытываючы, што дэпрэсія КК GdCl_3 і угнетенне NO-сінтэтазы L-NAME аслабляюць гепататэксікацыйнае дзейства этанола, а такжэ яго угнетаючае ўплыванне на працэсы дэтэксікацыі і актыўнасць працэсаў ПОЛ, былі аснованія палагаць, што прадукцыя КК NO ў умовах хронічнай алкаголізацыі сказываецца на патогенезе хронічнай алкагольнай інтэксікацыі.

Заклучение. Хроническая этаноловая интоксикация у крыс суправаджаецца зніжэннем тэмпературы тэла, актыўнасці аргіназы печыні, звылічэннем ПНС і павышэннем узрўняў $\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$, СМ, СТК, а такжэ актыўнасці АлАТ і АсАТ ў плазме крыві. В індукіраваных хронічнай інтэксікацыяй этанолам змяненнях дэтэксікацыйнай функцыі печыні і тэмпературы тэла ўчаствуюць аргіназа печыні і КК. Дзейства ў арганізме як інгібятара КК GdCl_3 , так і блокатара NO-сінтэтазы L-NAME аслабляе развіццё характэрных змяненняў дэтэксікацыйнай функцыі печыні і тэмпературы тэла пры хронічнай алкагольнай інтэксікацыі, а дзейства інгібятара аргіназы ng-NOHA , напротыў, спосабствуе іх развіццю.

Спісок іспользаваных істочнікаў

1. Буко, В. У. Метабалічныя паследствы алкагольнай інтэксікацыі / В. У. Буко, О. Я. Лукіўская, А. М. Хоха; Нац. акад. навук Беларусі, Ін-т біохіміі. – Мінск: Беларус. навука, 2005. – 207 с.
2. Маянскі, Д. Н. Клеткі Купфера і паталогія печыні / Д. Н. Маянскі // Паталогічная фізіялогія і эксперыментальная медыцына. – 1985. – № 4. – С. 80–86.
3. Вісамонт, Ф. І. О ролі клетак Купфера і гепатоцытаў ў механізмах рэалізацыі ўплывання трыодтыроніна на працэсы дэтэксікацыі і рэгуляцыі тэмпературы тэла / Ф. І. Вісамонт, С. А. Артышкewіч // Беларус. мед. журн. – 2005. – Т. 13, № 3. – С. 45–47.
4. Вісамонт, Ф. І. Роль клетак Купфера і α_1 -антытрыпсіна плазмы крыві ў рэгуляцыі дэтэксікацыйнай функцыі печыні, фарміраванні тыеоіднага статусу і тэрморэгуляцыі пры бактэрыяльнай эндатэксінеміі / Ф. І. Вісамонт, М. А. Глебов // Мед. журн. – 2013. – № 4 (46). – С. 54–57.
5. Ethanol-derived immunoreactive species formed by free radical mechanisms / С. Moncada [et al.] // Mol. Pharmacol. – 1994. – Vol. 46, N 4. – P. 786–791.
6. Kupffer cells function in thyroid hormone-induced liver oxidative stress in the rat / G. Tapra [et al.] // Free Radic. Res. – 1997. – Vol. 26, N 3. – P. 267–279.
7. Вісамонт, Ф. І. Учасце клетак Купфера і гепатоцытаў ў фарміраванні тэрморэгуляцыйных рэакцый арганізма на дзейства эндатэксіна / Ф. І. Вісамонт, К. Н. Грышчэнка // Здравоохранение. – 2001. – № 8. – С. 29–31.

8. Висмонт, А. Ф. Роль аргиназы печени в процессах детоксикации и ее участие в механизмах регуляции температуры тела при бактериальной эндотоксинемии / А. Ф. Висмонт, Л. М. Лобанок // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2011. – Т. 55, № 2. – С. 83–87.
9. Mendez, J. D. Spermene increases arginase activity in the liver after carbon tetrachloride-induced hepatic injury in Long-Evans rats / J. D. Mendez, H. De Haro, V. A. Conejo // Biomed. Pharmacother. – 2006. – Vol. 6, N 2. – P. 82–85.
10. Трапезникова, С. С. Активность аргиназы различных тканей крысы при алкогольной интоксикации / С. С. Трапезникова, В. М. Гуртовенко, Д. Г. Навасардянец // Вопр. мед. химии. – 1983. – Т. 29, № 4. – С. 95–98.
11. Тэйлор, Б. С. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции / Б. С. Тэйлор, Л. Х. Аларсон, Т. Р. Биллиар // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 7. – С. 905–923.
12. Hallemeesch, M. M. Reduced arginine availability and nitric oxide production / M. M. Hallemeesch, W. H. Lamers, N. E. Deutz // Clin. Nutr. – 2002. – Vol. 21, N 4. – P. 273–279.
13. Scibior, D. Arginine – metabolism and functions in the human organism / D. Scibior, H. Czebot // Postepy Hig. Med. Dosw. – 2004. – Vol. 58. – P. 321–332.
14. Gerstberger, R. Nitric oxide and body temperature Control / R. Gerstberger // News Physiol. Sci. – 1999. – Vol. 14, N 2. – P. 30–36.
15. О нормах кормления лабораторных животных и продуцентов [Электронный ресурс]: приказ М-ва здравоохранения СССР от 10 марта 1966 г., № 163 // Полное собрание законодательства СССР. – Режим доступа: www.ussrdoc.com. – Дата доступа: 01.04.2012.
16. Volmar, B. Modulation of Kupfer cells activity by gadolinium chloride in endotoxemic rats / B. Volmar, D. Rettinger, G. A. Wanner // Shock. – 1996. – Vol. 6, N 6. – P. 434–441.
17. Geyer, J. W. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates / J. W. Geyer, D. Dabich // Anal. Biochem. – 1971. – Vol. 39, N 2. – P. 412–417.
18. Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation / H. Moshage [et al.] // Clin. Chem. – 1995. – Vol. 41, N 6. – P. 892–896.
19. Способ определения веществ группы средних молекул в биологических жидкостях: а. с. 1520445 СССР, VRB F 01 № 33/50 / В. М. Моин, В. В. Николайчик, В. В. Кирковский // Открытия. Изобретения. Промышленные образцы. Товарные знаки. – 1987. – № 41. – С. 415.
20. Способ определения токсичности биологических жидкостей: а. с. 1146570 СССР, МКИ б 01 № 1/28 / О. А. Радькова, Г. А. Бояринов, И. Н. Балишина // Открытия. Изобретения. Промышленные образцы. Товарные знаки. – 1985. – № 11. – С. 616.
21. Mihara, M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test / M. Mihara, T. Uchiyama // Analyt. Biochem. – 1978. – Vol. 86, N 1. – P. 271–278.
22. Костюк, В. А. Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов / В. А. Костюк // Вопр. мед. химии. – 1984. – № 4. – С. 125–127.
23. Fletcher, B. L. Fluorescent products of lipid peroxidation of mitochondria and microsomes / B. L. Fletcher, C. L. Dillard, A. L. Tappel // Analyt. Biochem. – 1973. – Vol. 52, N 1. – P. 1–9.
24. 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. – Date of access: 21.05.2012.
25. 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).
26. Boucher, J. L. Selective inhibitors and substrates for arginases and nitric oxide synthases / J. L. Boucher // Fund. Clin. Pharmacol. – 2004. – Vol. 18, N 1. – P. 5–15.

References

1. Buko V. U., Lukivskaya O. Ya., Chocha A. M. *Metabolic effects of alcohol intoxication*. National Academy of Sciences of Belarus, Institute of Biochemistry. Minsk, 2005. 207 p. (in Russian).
2. Maianskii, D. N. Kupffer cells and liver pathology. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya meditsina* [Pathological Physiology and Experimental Medicine], 1985, no. 4, pp. 80–86. (in Russian).
3. Vismont F. I., Artyushkevich S. A. On the role of Kupffer cells and hepatocytes in the mechanisms of implementation of triiodothyronine influence on the processes of detoxification and regulation of body temperature. *Belorusskii meditsinskii zhurnal* [Belarusian Medical Journal], 2005, vol. 13, no. 3, pp. 45–47. (in Russian).
4. Vismont F. I., Glebov M. A. The role of Kupffer cells and α_1 -antitrypsin of blood plasma in the regulation of liver detoxification function, the formation of thyroid status and thermoregulation in bacterial endotoxemia. *Meditsinskii zhurnal* [Medical Journal], 2013, no. 4, pp. 54–57. (in Russian).
5. Moncada C., Torres V., Varghese G., Albano E., Israel Y. Ethanol-derived immunoreactive species formed by free radical mechanisms. *Molecular Pharmacology*, 1994, vol. 46, no. 4, pp. 786–791.
6. Tapra G., Pepper I., Smok G., Videla L. A. Kupffer cells function in thyroid hormone-induced liver oxidative stress in the rat. *Free Radical Research*, 1997, vol. 26, no. 3, pp. 267–279.
7. Vismont F. I., Grischenko K. N. Participation of hepatocytes and Kupffer cells in the formation of thermoregulatory reactions of the organism to the action of endotoxin. *Zdravookhranenie* [Healthcare], 2001, no. 8, pp. 29–31. (in Russian).

8. Vismont A. F., Lobanok L. M. The role of arginase in liver detoxification process and its participation in the mechanisms of regulation of body temperature with bacterial endotoxemia. *Doklady Natsyyonal'noi akademii nauk Belarusi* = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus, 2011, vol. 55, no. 2, pp. 83–87. (in Russian).
9. Mendez J. D., De Haro H., Conejo V. A. Spermine increases arginase activity in the liver after carbon tetrachloride-induced hepatic injury in Long-Evans rats. *Biomedical Pharmacotherapy*, 2006, vol. 6, no. 2, pp. 82–85.
10. Trapeznikova S. S., Gurtovenko V. M., Navasardiants D. G. Arginase activity of rat different tissues in alcohol intoxication. *Voprosy meditsinskoi khimii* [Questions of Medical Chemistry], 1983, vol. 29, no. 4, pp. 95–98. (in Russian).
11. Teylor B. S., Alarson L. Kh., Billiar T. R. Inducible nitric oxide synthase in the liver: regulation and function. *Biokhimiia* [Biochemistry], 1998, vol. 63, no. 7, pp. 905–923. (in Russian).
12. Hallemeesch M. M., Lamers W. H., Deutz N. E. Reduced arginine availability and nitric oxide production. *Clinical Nutrition*, 2002, vol. 21, no. 4, pp. 273–279.
13. Scibior D., Czeczot H. Arginine – metabolism and functions in the human organism. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 2004, vol. 58, pp. 321–332.
14. Gerstberger R. Nitric oxide and body temperature control. *News in Physiological Sciences*, 1999, vol. 14, no. 2, pp. 30–36.
15. On the norms of feeding laboratory animals and producers: the order of the Ministry of Health of the USSR of March 10, 1966, no. 163. *Polnoe sobranie zakonodatel'stva SSSR* [Complete Collection of legislation of the USSR]. Available at: <http://www.ussrdoc.com> (accessed 01.04.2012). (in Russian).
16. Volmar B., Rettinger D., Wanner G. A. Modulation of Kupfer cells activity by gadolinium chloride in endotoxemic rats. *Shock*, 1996, vol. 6, no. 6, pp. 434–441.
17. Geyer J. W., Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Analytical Biochemistry*, 1971, vol. 39, no. 2, pp. 412–417.
18. Moshage H., Kok B., Huizenga J. R., Jansen P. L. Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation. *Clinical Chemistry*, 1995, vol. 41, no. 6, pp. 892–896.
19. Moin V. M., Nikolaychik V. V., Kirkovskii V. V. The method for determining the group of substances of middle molecules in biological fluids: copyright certificate 1520445 USSR, VRB F 01, no. 33/50. *Otkrytiia. Izobreteniia. Promyshlennye obraztsy. Tovarnye znaki* [Discoveries. Inventions. Industrial designs. Trademarks], 1987, no. 41, p. 415. (in Russian).
20. Rad'kova O. A., Boyarinov G. A., Balishina I. N. A method for determining the toxicity of biological fluids: copyright certificate 1146570 USSR, MKI b Ol, no. 1/28. *Otkrytiya. Izobreteniya. Promyshlennye obraztsy. Tovarnye znaki* [Discoveries. Inventions. Industrial designs. Trademarks], 1985, no. 11, p. 616. (in Russian).
21. Mihara M., Uchiyama T. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*, 1978, vol. 86, no. 1, pp. 271–278.
22. Kostyuk V. A. Spectrophotometric determination of diene conjugates. *Voprosy meditsinskoi khimii* [Questions of Medical Chemistry], 1984, no. 4, pp. 125–127. (in Russian).
23. Fletcher B. L., Dillard C. L., Tappel A. L. Fluorescent products of lipid peroxidation of mitochondria and microsomes. *Analytical Biochemistry*, 1973, vol. 52, no. 1, pp. 1–9.
24. 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 21.05.2012).
25. Good Laboratory Practice (GLP), TCP 125–2008 (02040), Technical Code of Good Practice. Minsk, Ministry of Health of the Republic of Belarus, 2008. 35 p. (in Russian)
26. Boucher J. L. Selective inhibitors and substrates for arginases and nitric oxide synthases. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 2004, vol. 18, no. 1, pp. 5–15.

Информация об авторах

Висмонт Франтишек Иванович – член-корреспондент, 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.

Лобанова Валерия Валерьевна – соискатель кафедры патологической физиологии. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь).

Information about the authors

Frantisek I. Vismont – 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.

Valeria V. Lobanova – Applicant of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by.

В. В. Лелевич, С. В. Лелевич*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь***КОРРЕКЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ КОМПОЗИЦИЯМИ
АМИНОКИСЛОТ ПРИ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ**

Аннотация. Исследована эффективность аминокислотных композиций при коррекции нарушений, вызванных прерывистой алкогольной интоксикацией (ПАИ) в печени, сердце и крови экспериментальных животных. Прерывистая алкогольная интоксикация сопровождается активацией процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови и печени, истощением мощности антиоксидантной системы. Изменения пула свободных аминокислот при алкогольной интоксикации выражаются в уменьшении уровней 9 аминокислот и этаноламина в печени, а также 5 аминокислот и этаноламина в миокарде. Аминокислотная композиция Тритарг в сравнении с Тавамином и Нейрамином обладает более выраженным корригирующим эффектом на активацию ПОЛ в крови и печени. Введение Тритарга, в отличие от Тавамина и Нейрамина, приводит к повышению в плазме крови уровня 10 аминокислот, этаноламина и глутатиона. Тритарг по сравнению с Тавамином и Нейрамином проявляет хорошо выраженный гепатотропный эффект, нормализуя уровни 9 аминокислот и глутатиона, и обладает более выраженным позитивным влиянием на метаболические отклонения при ПАИ.

Ключевые слова: алкоголь, печень, сердце, аминокислоты

Для цитирования: Лелевич, В. В. Коррекция метаболических нарушений композициями аминокислот при прерывистой алкогольной интоксикации / В. В. Лелевич, С. В. Лелевич // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2017. – № 3. – С. 22–28.

V. V. Lelevich, S. V. Lelevich*Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus***CORRECTION OF METABOLIC DISORDERS DUE TO AMINO ACID COMPOSITIONS
AT INTERMITTENT ALCOHOL INTOXICATION**

Abstract. The efficiency of amino acid compositions during the correction of the disorders due to intermittent alcohol intoxication in liver, heart and blood of experimental animals is researched. Intermittent alcohol intoxication is followed by the activation of POL processes in blood and liver and by the depletion of the antioxidant system capacity. Changes in the free amino acid pool at alcohol intoxication are expressed in a reduction of the levels of 9 amino acids and ethanolamine in the liver, and also 5 amino acids and ethanolamine in the myocardium. The amino acid composition Tritarg, in comparison with Tavamin and Neyramin has a more expressed correction effect on the POL activation in the blood and the liver. Administration of Tritarg, unlike Tavamin and Neyramin, leads to an increase in the blood plasma of the level of 10 amino acids, ethanolamine and glutathione. Tritarg in comparison with Tavamin and Neyramin shows the well expressed hepatotrophic effect, normalizing the levels of 9 amino acids and glutathione, and has a more expressed positive influence on metabolic deviations at intermittent alcohol intoxication.

Keywords: alcohol, liver, heart, amino acids

For citation: Lelevich V. V., Lelevich S. V. Correction of metabolic disorders due to amino acid compositions at intermittent alcohol intoxication. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 22–28 (in Russian).

Введение. Алкоголизм и его последствия находятся в сфере внимания исследователей многие годы. По данным ВОЗ, злоупотребление алкоголем занимает пятое место в мире среди основных причин преждевременной смерти и инвалидности [1]. Исследование патогенеза алкоголизма с использованием различных методических подходов делает возможным выявление существенных биохимических факторов на уровне метаболических систем, эндокринных расстройств, изменений в сфере модуляции и медиации нервных импульсов в ЦНС и некоторых других факторов [2–4]. Подобный комплексный подход позволяет более дифференцированно оценить вклад тех или иных

систем организма в развитие патологического процесса. Развитие специфических фармакологических и токсических эффектов алкоголя зависит в первую очередь от активности энзиматических, нейромедиаторных и гормональных систем организма, которые определяют поведение и реакцию особи на вводимый алкоголь [2]. Таким образом, биологические основы хронического действия алкоголя на организм человека и животных идентичны, что может служить основой для моделирования в эксперименте. Прогресс в понимании патогенеза алкоголизма в значительной степени зависит от адекватности выбранных моделей, используемых для изучения этих механизмов [5–8].

В последнее время предложен и активно разрабатывается целый ряд экспериментальных моделей различных форм алкоголизации [9–11]. Среди множества этих форм в человеческой популяции достаточно часто встречается прерывистый прием алкоголя, который можно рассматривать как чередование более или менее длительных периодов алкогольной интоксикации и ее отмены. Прерывистую алкогольную интоксикацию (ПАИ) следует рассматривать как новое клиническое состояние алкогольной болезни с учетом выраженных клинических и патохимических симптомов алкогольной абстиненции [12, 13].

Алкогольная интоксикация характеризуется многообразием метаболических нарушений, которые обуславливают тяжесть заболевания и его осложнения [2, 12, 14]. В настоящее время недостаточно учитывается то обстоятельство, что метаболические сдвиги по мере прогрессирования алкоголизма формируются не только в ЦНС, но и во многих паренхиматозных органах [7, 15, 16]. В этой связи становится понятной необходимость более активного применения препаратов метаболического действия, нормализующих обмен веществ в целом. Использование аминокислот в общих схемах детоксикации при алкогольной интоксикации является во многом эмпирическим и чаще всего не основано на глубоком понимании метаболизма этих соединений [5]. Пока немногочисленны научно обоснованные рекомендации по выбору оптимальных аминокислотных композиций для коррекции метаболических нарушений [17, 18]. Тесно сопряжены с этой проблемой необходимость исследования обмена свободных аминокислот и структуры аминокислотного фонда в тканях в условиях развития алкогольного абстинентного синдрома, а также изучения метаболизма аминокислот в течение длительного периода после прекращения хронической алкоголизации [14]. Очевидно и то, что фармакотерапевтическая активность и схемы применения аминокислот еще далеко не изучены, несмотря на их метаболическую вездесущность. Поэтому, несмотря на достаточное внимание, уделяемое в научной литературе биохимии алкоголизма и, в частности, обмену свободных аминокислот, представляется необходимым проведение дальнейших исследований по изучению биохимических нарушений при различных формах алкоголизации и поиску новых лекарственных препаратов среди таких биологически активных соединений природного происхождения, как аминокислоты.

Цель настоящего исследования – экспериментальное изучение эффективности различных композиций аминокислот для метаболической коррекции при прерывистой алкогольной интоксикации.

Объекты и методы исследования. Эксперименты выполнены на 40 крысах-самцах массой 180–220 г. ПАИ моделировали путем внутрижелудочного введения 25 %-ного раствора этанола в дозе 3,5 г/кг массы тела 2 раза в сутки в течение 4 сут. Затем в течение 3 сут животным внутрижелудочно вводили эквивалентное количество воды. Такие недельные циклы повторяли 4 раза. Лекарственные формы Тавамин (валин-лейцин-изолейцин-таурин), Нейрамин (триптофан-глицин-аргинина аспартат) и созданная нами композиция Тритарг (триптофан-таурин-аргинин-цинк аспартат) вводили внутрижелудочно 2 раза в сутки в течение 3 сут между 4-суточными периодами введения этанола. Суточная доза для Тавамина составляла 500 мг/кг массы тела, Нейрамина – 200, Тритарга – 350 мг/кг. Длительность экспериментального цикла во всех группах составляла 28 сут.

Определение уровней аминокислот проводили в хлорнокислых экстрактах тканей методом обращенно-фазной хроматографии на ВЭЖХ-системе Waters, состоящей из системы подачи растворителей M501 с демпфером пульсаций, термостата колонок TCM, инжектора Rheoolyne 7125 и амперометрического детектора M460 (Waters Assoc., США) с предколоночной дериватизацией 0,4 %-ным ортофталевым альдегидом и 0,3 %-ной 3-меркаптопропионовой кислотой в 0,4 М Натриум-буфере, рН 9,4, а также флуоренилметилоксикарбонил-хлоридом (FMOС).

Уровень диеновых конъюгатов (ДК) определяли [19] по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 232–234 нм, а уровень малонового диальдегида (МДА) – по его взаимодействию с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [20]. Концентрацию α -токоферола (витамина Е) определяли по методу, основанному на определении интенсивности флуоресценции гексанового экстракта тканей [20]. Статистическую обработку полученных данных выполняли с помощью пакета статистических программ STATISTICA 6.0. Для сравнения экспериментальных групп по количественным признакам использовали параметрический *t*-критерий Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. ПАИ сопровождается активацией процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). В плазме крови при ПАИ статистически значительно повышается содержание ДК (на 64 %) и МДА (в 4,6 раза) (табл. 1). В печени уровень ДК увеличивается (на 75 %) на фоне понижения содержания витамина Е. Это свидетельствует о снижении активности системы антиоксидантной защиты в данных экспериментальных условиях. Полученные результаты указывают на идентичность метаболических нарушений при хронической алкогольной интоксикации и ПАИ. Ранее показано, что в патогенезе алкоголь-индуцируемых поражений печени важную роль играет накопление липидов и усиление их свободнорадикального окисления с накоплением продуктов ПОЛ [7]. При поступлении в организм экзогенных токсикантов, в том числе этилового спирта, активизируется монооксидазный окислительный метаболизм на цитохромах P450 и b5, что ускоряет образование активных форм кислорода – супероксидного анион-радикала и перекиси водорода [8]. Свободные радикалы, в свою очередь, запускают процессы ПОЛ, а также продукцию провоспалительных цитокинов, включая фактор некроза опухолей [15].

Таблица 1. Содержание диеновых конъюгатов, малонового диальдегида и витамина Е в плазме крови и в печени крыс при прерывистой алкогольной интоксикации и ее коррекции

Table 1. Level of dienoic conjugates, malondialdehyde and vitamin E in the blood plasma and in the rat liver at intermittent alcohol intoxication and its correction

Показатель	Контроль (группа 1, n = 8)	ПАИ (группа 2, n = 8)	ПАИ + Тавамин (группа 3, n = 8)	ПАИ + Нейрамин (группа 4, n = 8)	ПАИ + Тритарг (группа 5, n = 8)
<i>Плазма крови</i>					
Диеновые конъюгаты, Ед/мл	2,24 ± 0,24	3,68 ± 0,59*	2,82 ± 0,63	3,73 ± 0,37*	2,81 ± 0,26
МДА, мкмоль/л	1,08 ± 0,15	4,99 ± 0,58*	4,21 ± 0,92*	3,72 ± 0,55*	1,31 ± 0,18 [#]
Витамин Е, мкмоль/л	14,7 ± 0,93	15,51 ± 1,4	13,87 ± 1,41	10,6 ± 0,51 [#]	12,1 ± 0,92 [#]
<i>Печень</i>					
Диеновые конъюгаты, Ед/мл	2,24 ± 0,40	3,93 ± 0,26*	3,32 ± 0,27	3,79 ± 0,35*	2,93 ± 0,33 [#]
Витамин Е, мкмоль/г	155,5 ± 12,35	11,02 ± 1,24*	16,29 ± 1,79 [#]	37,86 ± 2,6 [#]	19,15 ± 2,76 [#]

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: * – статически значимые различия с контролем; [#] – статически значимые различия со 2-й группой (ПАИ).

Определенные изменения ПАИ вызывает в содержании свободных аминокислот и в структуре их пула. В плазме крови уровень свободных аминокислот при ПАИ не изменяется в сравнении с таковым в контрольной группе. В печени при этом отмечаются более выраженные изменения. ПАИ приводит к снижению в этом органе содержания 9 аминокислот в сравнении с их содержанием в контрольной группе (табл. 2). Наряду с этим в печени на фоне ПАИ снижается уровень этаноламина и повышается содержание глутатиона. Данные сдвиги приводят к снижению в печеночной ткани суммы протеиногенных аминокислот (на 24,5 %) и достоверному увеличению коэффициента аминокислоты с разветвленной углеводородной цепью/ароматические аминокислоты (АРУЦ/ААК; (2,27 ± 0,02)–(2,37 ± 0,03); $p < 0,05$). Одним из возможных механизмов снижения уровня аминокислот в печени при ПАИ может являться активация в ней продукции провоспалительных цитокинов и развитие воспалительной клеточной инфильтрации [15]. Таким образом, алкогольная интоксикация, как хроническая, так и прерывистая, сопровождается значительной трансформацией пула свободных аминокислот в печени [14, 21].

Таблица 2. Содержание аминокислот и их производных (нмоль/г) в печени крыс при прерывистой алкогольной интоксикации и ее коррекции

Table 2. Level of amino acids and their derivatives (nmole/g) in the rat liver at intermittent alcohol intoxication and its correction

Показатель	Контроль (группа 1, n = 8)	ПАИ (группа 2, n = 8)	ПАИ + Тавамин (группа 3, n = 8)	ПАИ + Нейрамин (группа 4, n = 8)	ПАИ + Тритарг (группа 5, n = 8)
Аспарат	1418 ± 133	819 ± 105*	1152 ± 170	1703 ± 307 [#]	1386 ± 215 [#]
Треонин	909 ± 121	484 ± 93*	613 ± 80,2	1057 ± 170 [#]	988 ± 205
ГАМК	69,1 ± 17,5	23,5 ± 3,44*	40,1 ± 15,8	65,7 ± 26,8	22,0 ± 5,22*
Тирозин	338 ± 64,6	130 ± 24,5*	196 ± 51,7	361 ± 76,7 [#]	209 ± 70,8
Валин	626 ± 106	277 ± 46*	408 ± 84	644 ± 111 [#]	454 ± 128
Триптофан	72,7 ± 7,56	38,3 ± 3,99*	55,0 ± 10,1	73,4 ± 8,19 [#]	55,0 ± 9,58
Фенилаланин	341 ± 66,0	147 ± 30,8*	216 ± 48,4	324 ± 51,2 [#]	229 ± 83,6
Орнитин	570 ± 91,7	265 ± 53,2*	283 ± 91,7	527 ± 97,8	441 ± 107
Пролин	1491 ± 186	507 ± 132*	1468 ± 367 [#]	2122 ± 427	1381 ± 394
Глутатион	15314 ± 1234	20996 ± 1454*	15079 ± 1939 [#]	13595 ± 1090 [#]	14495 ± 2113 [#]
Этаноламин	358 ± 63,7	103 ± 25,4*	210 ± 113	340 ± 109	133 ± 60,2*

При ПАИ в сердечной мышце, как и в печени, отмечается снижение содержания ряда аминокислот и их производных (табл. 3). В частности, статистически значимо в сравнении с контролем понижаются уровни глутамин, аргинина, этаноламина, валина, фенилаланина и лизина. Это приводит к изменениям структуры пула свободных аминокислот в миокарде на фоне ПАИ, которые выражаются в статистически значимом увеличении соотношений заменимые/незаменимые ($13 \pm 0,36$ и $16,2 \pm 0,12$), а также гликогенные/кетогенные ($32,4 \pm 1,7$ и $56 \pm 9,54$ соответственно) аминокислоты.

Таблица 3. Содержание аминокислот и их производных (нмоль/г) в сердце крыс при прерывистой алкогольной интоксикации и ее коррекции

Table 3. Level of amino acids and their derivatives (nmole/g) in the rat heart at intermittent alcohol intoxication and its correction

Показатель	Контроль (группа 1, n = 8)	ПАИ (группа 2, n = 8)	ПАИ + Тавамин (группа 3, n = 8)	ПАИ + Нейрамин (группа 4, n = 8)	ПАИ + Тритарг (группа 5, n = 8)
Глутамат	7357 ± 340	6185 ± 1128	4498 ± 1444*	6422 ± 256*	6891 ± 351
Аспарагин	472 ± 22	344 ± 64	179 ± 79*	374 ± 30*	482 ± 21 [#]
Глутамин	18157 ± 878	12757 ± 2624*	13582 ± 667*	14662 ± 1343*	18150 ± 1000
Глицин	661 ± 32	492 ± 95	535 ± 20*	645 ± 13	723 ± 47 [#]
Треонин	600 ± 28	472 ± 97	433 ± 35*	544 ± 25	681 ± 31 [#]
Аргинин	546 ± 19	329 ± 64*	338 ± 18*	435 ± 31*	601 ± 36 [#]
Аланин	2438 ± 131	1804 ± 339	2018 ± 127	2250 ± 137	2422 ± 126
Этаноламин	62,2 ± 3,2	35,6 ± 7,2*	41,6 ± 2,7*	55,0 ± 3,1 [#]	59,8 ± 4,4 [#]
Валин	250 ± 12	173 ± 32*	199 ± 5*	222 ± 6	241 ± 15
Фенилаланин	106 ± 3,6	76,4 ± 13,7*	93,9 ± 4,1	91,1 ± 2,4*	103 ± 4,6
Лизин	919 ± 53	462 ± 100*	428 ± 57*	653 ± 52*	1046 ± 83 [#]
Пролин	1424 ± 188	1406 ± 258	1852 ± 205	1179 ± 98	862 ± 76 [#]

Введение аминокислотных композиций в различной степени влияет на процессы ПОЛ, активированные при ПАИ. Тавамин нормализует уровень ДК в крови, повышенный при ПАИ, не изменяя содержания МДА и витамина Е (см. табл. 1). В печени этот препарат также снижает концентрацию ДК и повышает уровень витамина Е. Эффекты Нейрамина на данное звено метаболизма выражены в меньшей степени. При его введении остается повышенным содержание ДК в плазме крови и печени, а также МДА в печени (табл. 1). Нейрамин разнонаправленно изменяет уровень витамина Е – повышает в печени, но снижает в плазме крови. Аминокислотная композиция Тритарг оказывает корригирующий эффект на процессы ПОЛ на фоне ПАИ. При ее введении нормализуются содержание ДК в плазме крови и печени, уровень МДА в крови. Влияние Тритарга

на концентрацию витамина Е аналогично влиянию Нейрамина – она снижается в крови, но повышается в печени.

Так как при ПАИ уровень свободных аминокислот в плазме крови не изменяется, то и введение Тавамина на этом фоне не приводит к существенным сдвигам их концентрации. Следует отметить только нормализацию уровня глутатиона у особой группы 3. Тавамин на фоне ПАИ оказывает более выраженный корригирующий эффект на содержание аминокислот в печени (табл. 2). Введение данного препарата сопровождается нормализацией уровней аспартата, треонина, ГАМК, тирозина, валина, триптофана, фенилаланина, орнитина, пролина и этаноламина, которые понижались при ПАИ (табл. 2). Такие сдвиги пула аминокислот под воздействием Тавамина приводят к нормализации соотношения АРУЦ/ААК, повышенного при ПАИ.

В миокарде Тавамин понижает уровни глутамата, аспарагина, глицина, треонина и аланина ниже значений в контрольной группе, хотя при ПАИ эти показатели здесь не отличаются от контрольных (табл. 3). Кроме того, Тавамин не нормализует уровни глутамата, аргинина, этаноламина, валина и лизина, измененные при ПАИ.

Нейрамин не оказывает влияния на уровень отдельных аминокислот в плазме крови, но повышает суммарное содержание протеиногенных аминокислот в сравнении с ПАИ. Более выраженный корригирующий эффект Нейрамина проявляется в отношении аминокислотного пула печени (табл. 2). Данный препарат нормализует пониженное при ПАИ содержание аспартата, треонина, тирозина, валина, триптофана, фенилаланина, орнитина, пролина и этаноламина в этом органе. Такие изменения приводят к нормализации соотношения АРУЦ/ААК, повышающегося при ПАИ.

В миокарде Нейрамин оказывает нормализующий эффект на уровни валина и этаноламина, не изменяя сниженное при ПАИ содержание глутамина, аргинина, фенилаланина и лизина (табл. 3).

Тритарг оказывает четко выраженный нормализующий эффект на уровень целого ряда аминокислот печени – аспартата, триптофана, тирозина, валина, треонина, фенилаланина, орнитина и пролина, содержание которых понижалось при ПАИ (см. табл. 2). Такой же нормализующий эффект на пул свободных аминокислот при ПАИ Тритарг проявляется и в миокарде, повышая содержание глутамина, аргинина, валина, фенилаланина, лизина и этаноламина (табл. 3), уровни которых снижались при ПАИ.

Заключение. Интегральный анализ изученных метаболических показателей в различных тканях при коррекции ПАИ с использованием различных аминокислотных препаратов позволил выявить следующие закономерности.

Прерывистая алкогольная интоксикация в режиме «4 сут этанол – 3 сут отмена» в течение 28 сут сопровождается активацией процессов ПОЛ в крови и печени, а также истощением мощности антиоксидантной системы. Изменения пула свободных аминокислот при ПАИ выражаются в уменьшении уровней 9 аминокислот и этаноламина в печени, а также 5 аминокислот и этаноламина в миокарде.

Введение Тавамина на фоне ПАИ выявило его определенные корригирующие эффекты. В печени данный препарат нормализует содержание диеновых конъюгатов и повышает в сравнении с группой ПАИ сниженное содержание витамина Е. Выявлен выраженный корригирующий эффект Тавамина на пул аминокислот в печени, который проявляется в нормализации отклонений в содержании 10 показателей и глутатиона. В отношении обмена свободных аминокислот в миокарде введение Тавамина не оказывает позитивного эффекта, а кроме того, снижает в сравнении с контролем содержание целого ряда аминокислот.

Нейрамин не проявляет антиоксидантного действия на показатели крови и печени. Как и Тавамин, он оказывает выраженный корригирующий эффект на пул аминокислот в печени, нормализуя содержание 10 аминокислот и глутатиона, а также соотношение АРУЦ/ААК. В миокарде его эффекты на пул свободных аминокислот более позитивны, чем эффекты Тавамина.

Тритарг в сравнении с Тавамином и Нейрамином обладает более выраженным корригирующим эффектом на активацию ПОЛ в крови и печени. Введение Тритарга, в отличие от Тавамина и Нейрамина, приводит к повышению в плазме крови уровня 10 аминокислот, этаноламина и глутатиона. Тритарг по сравнению с Тавамином и Нейрамином проявляет хорошо выраженный

гепатотропный эффект, нормализуя уровни 9 аминокислот и глутатиона, и обладает более выраженным позитивным влиянием на метаболические отклонения при ПАИ. Эффекты Тритарга проявляются в плазме крови, печени и сердце. На основании выявленных эффектов Тритарга получен патент на изобретение «Средство для коррекции нарушений функции печени при прерывистой алкогольной интоксикации» (№ 19802 от 09.10.2015 г. в Государственном реестре изобретений).

Список использованных источников

1. Агибалова, Т. В. Стратегия снижения потребления алкоголя как новая возможность в терапии алкогольной зависимости / Т. В. Агибалова, Д. И. Шустов, О. Д. Тучилина // Соц. и клин. психиатрия. – 2015. – № 3. – С. 61–68.
2. Лелевич, С. В. Центральные и периферические механизмы алкогольной и морфиновой интоксикации / С. В. Лелевич. – Гродно: Гродн. гос. мед. ун-т, 2015. – 252 с.
3. Лелевич, В. В. Особенности обмена ГАМК в печени крыс при различных режимах алкогольной абстиненции / В. В. Лелевич, А. Г. Виницкая, С. В. Лелевич // Биомед. химия. – 2014. – Вып. 5. – С. 561–566.
4. GABAergic actions mediate opposite ethanol effects on dopaminergic neurons in the anterior and posterior ventral tegmental area / Y. Guan [et al.] // Pharmacol. Exp. Ther. – 2010. – Vol. 341, N 1. – P. 33–42.
5. Лелевич, В. В. Состояние пула свободных аминокислот крови и печени при хронической алкогольной интоксикации / В. В. Лелевич, О. В. Артемова // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2010. – № 2. – С. 16–19.
6. Анохина, И. П. Биологические механизмы зависимости от психоактивных веществ (патогенез) // Лекции по наркологии / под общ. ред. Н. Н. Иванца. – М., 2000. – С. 16–40.
7. Панченко, Л. Ф. Окислительный стресс в патогенезе алкогольной болезни печени / Л. Ф. Панченко, Б. В. Давыдов, Н. Н. Теребилина // Вопр. наркологии. – 2013. – № 2. – С. 82–91.
8. Микросомальное окисление в физиологических и патологических процессах / Э. Э. Кузнецов [и др.] // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 4 (56). – С. 170–180.
9. Ward, R. Biochemical and neurotransmitter changes implicated in alcohol – induced brain damage in chronic or «binge drinking» alcohol abuse // R. Ward, F. Lallemand, P. Witte // Alcohol Alcohol. – 2009. – Vol. 44, N 2. – P. 128–135.
10. Karinch, A. M. Acute and chronic ethanol consumption differentially impact pathways limiting hepatic protein synthesis / A. M. Karinch, J. H. Martin, T. C. Vary // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2008. – Vol. 295, N 1. – P. 3–9.
11. Лелевич, В. В. Современное состояние моделирования в экспериментальной наркологии [Электронный ресурс] / В. В. Лелевич, С. В. Лелевич // Актуальные проблемы медицины: материалы ежегод. итоговой науч.-практ. конф., 26–27 янв. 2017 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Гродн. гос. мед. ун-т [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.) и др.]. – Гродно, 2017. – С. 517–521. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).
12. Артемова, О. В. Свободные аминокислоты печени крыс в условиях прерывистой алкогольной интоксикации / О. В. Артемова, В. В. Лелевич // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2007. – № 3. – С. 25–28.
13. Способ моделирования прерывистой алкогольной интоксикации у крысы в эксперименте: пат. ВУ 14289 / В. В. Лелевич, С. В. Лелевич; заявитель и патентообладатель Гродн. гос. мед. ун-т. – Опубл.: 30.04.2011. – 3 с.
14. Шейбак, В. М. Обмен свободных аминокислот и КоА при алкогольной интоксикации / В. М. Шейбак. – Гродно: Гродн. гос. мед. ун-т, 1998. – 153 с.
15. Aleynik, S. I. Increased circulating products of lipid peroxidation in patients with alcoholic liver disease / S. I. Aleynik, M. A. Leo, M. K. Aleynik // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 1958. – Vol. 22, N 1. – P. 19–26.
16. Шабанов, П. Д. Наркология: руководство для врачей / П. Д. Шабанов. – М: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 832 с.
17. Аминокислоты и их производные в коррекции метаболических нарушений при наркологических заболеваниях / А. В. Козловский [и др.] // Мед. новости. – 2004. – № 7. – С. 27–33.
18. Разводовский, Ю. Е. Аминокислоты в патогенезе и лечении алкоголизма / Ю. Е. Разводовский // Наркология. – 2010. – № 6. – С. 88–96.
19. Гаврилов, В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33–36.
20. Камышников, В. С. Справочник по клинико-лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – Минск: Беларусь, 2002. – 462 с.
21. Лелевич, В. В. Изменения пула свободных аминокислот в плазме крови и скелетных мышцах крыс при прерывистой алкогольной интоксикации / В. В. Лелевич, Ю. А. Тарасов, С. В. Лелевич // Журн. Гроднен. гос. мед. ун-та. – 2012. – № 2. – С. 24–26.

References

1. Agibalova T. B., Shustov D. I., Tuchilina O. D. The strategy of decrease in consumption of alcohol as a new opportunity in therapy of alcoholic dependence. *Socialnaja i klinicheskaja psichiatrija* [Society and Clininical Psychiatry], 2015, no. 3, pp. 61–68. (in Russian).
2. Lelevich S. V. *Central and peripheral mechanisms of alcohol and morfine intoxication*. Grodno, GRSMU, 2015, 252 p. (in Russian).
3. Lelevich V. V., Vinitckaja A. G., Lelevich S. V. Features of exchange of GABA in a liver of rats at various modes of alcohol withdrawal. *Biomedicinskaja Chimija* [Biomedical Chemistry], 2014, vol. 5, pp. 561–566. (in Russian).

4. Guan Y., Xiao C., Кмјевиџ К., Xie G., Zuo W., Ye J.-H. GABAergic actions mediate opposite ethanol effects on dopaminergic neurons in the anterior and posterior ventral tegmental. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2010, vol. 341, no. 1, pp. 33–42.
5. Lelevich V. V., Artemova O. V. Condition of a pool of free amino acids of blood and liver at chronic alcohol intoxication. *Zhurnal GrGMU* [Journal of GRSMU], 2010, no. 2, pp. 16–19. (in Russian).
6. Anochina I. P. *Biological mechanisms of dependence on psychoactive agents (pathogenesis). Lectures on Narcology*. Moscow, Nauka [Science], 2000, pp. 16–40. (in Russian).
7. Panchenko L. F., Davudov B. V., Terebilina N. N. Oxidizing stress in pathogenesis of an alcohol liver disease. *Voprosi narkologii* [Narcology questions], 2013, no. 2, pp. 82–91. (in Russian).
8. Kuznetsov E. E., Gorochova V. G., Gorochov A. A., Sergeyeva A. S., Kurilskaya T. E., Pivovarov Yu. I., Runovich A. A. Mikrosomal oxidation in physiological and pathological processes. *Bull. VCNC SO RAMN* [Bull. of BSNC SO RAMS], 2007, no. 4, pp. 170–180. (in Russian).
9. Ward R., Lallemand F., Witte P. Biochemical and neurotransmitter changes implicated in alcohol – induced brain damage in chronic or «binge drinking» alcohol abuse. *Alcohol Alcoholism*, 2009, vol. 44, no. 2, pp. 128–135.
10. Karinch A. M., Martin J. H., Vary T. C. Acute and chronic ethanol consumption differentially impact pathways limiting hepatic protein synthesis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2008, vol. 295, no. 1, pp. 3–9.
11. Lelevich V. V., Lelevich S. V. The current state of modeling in experimental narcology [Electronic Resurces]. *Materialy ezegodnoj nauchno-prakticheskoi konferencii «Aktual'nye problemy mediciny»* [Materials of an annual scientific and practical conference «Actual problems of medicine»]. Grodno, Grodno State Medical University, 2017, pp. 517–521. (in Russian).
12. Artemova O. V., Lelevich V. V. Free amino acids of a liver of rats in the conditions of faltering alcohol intoxication. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of Grodno State Medical University], 2007, no. 3, pp. 25–28. (in Russian).
13. Lelevich V. V., Lelevich S. V. *Way of modeling of faltering alcohol intoxication at a rat in an experiment*. Patent BY, no. 14289, 2011. (in Russian).
14. Sheibak V. M. *Exchange of free amino acids and KoA at alcohol intoxication*. Grodno, Grodnenskii gosudarstvennyi meditsinskii universitet [Grodno State Medical University], 1998. 153 p. (in Russian).
15. Aleynik S. I., Leo M. A., Aleynik M. K. Increased circulating products of lipid peroxidation in patients with alcoholic liver disease. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 1958, vol. 22, no. 1, pp. 19–26.
16. Shabanov P. D. *Narcology: the management for doctors*. Moscow, GOETAR-Media, 2012. 832 p. (in Russian).
17. Kozlovskii A. V., Lelevich V. V., Vinitaskaia A. G., Kurbat M. N., Lelevich S. V. Amino acids and their derivatives in correction of metabolic violations at narcologic diseases. *Medicinskie novosti* [Med. News], 2004, no. 7, pp. 27–33. (in Russian).
18. Razvodovskii Iu. E. Amino acids in pathogenesis and treatment of alcoholism. *Narkologiya* [Narcology], 2010, no. 6, pp. 88–96. (in Russian).
19. Gavrilov V. B., Mishkorudnaja M. I. Spektrofotometric determination of content of hydroperoxides of lipids in blood plasma. *Laboratornoe delo* [Laboratory Buissness], 1983, no. 3, pp. 33–36. (in Russian).
20. Kamushnikov V. S. *Reference book on clinical laboratory diagnostics*. Minsk, Belarus' [Belarus], 2002, 462 p. (in Russian).
21. Lelevich V. V., Tarasov Y. A., Lelevich S. V. Changes of a pool of free amino acids in plasma of blood and skeletal muscles of rats at faltering alcohol intoxication. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* [Journal of Grodno State Medical University], 2012, no. 2, pp. 24–26. (in Russian).

Информация об авторах

Лелевич Владимир Валерьянович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь).

Лелевич Сергей Владимирович – д-р мед. наук, профессор. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: slelevich@yandex. ru.

Information about the authors

Vladimir V. Lelevich – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus).

Sergey V. Lelevich – D. Sc. (Med.), Professor. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: slelevich@yandex. ru.

Н. В. Поклонская¹, Т. В. Амвросьева¹, С. К. Лозюк¹, Ю. А. Шилова¹,
З. Ф. Богущ¹, Н. М. Бискина²

¹Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
Минск, Республика Беларусь

²Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья,
Минск, Республика Беларусь

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ЭНТЕРОВИРУСОВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ТЯЖЕЛЫЕ НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ ФОРМЫ ИНФЕКЦИИ

Аннотация. Представленная работа посвящена анализу результатов молекулярно-эпидемиологических исследований наблюдаемой в 2016 г. заболеваемости тяжелыми неврологическими формами энтеровирусной инфекции (ЭВИ) в отдельных регионах Республики Беларусь.

Установлено, что основным этиологическим агентом подъема заболеваемости неврологическими формами ЭВИ в Минске и Гомельской области в 2016 г. были вирусы ЕСНО 9. Анализ нуклеотидных последовательностей идентифицированных изолятов ЕСНО 9 показал их значительную генетическую гетерогенность. Филогенетическая реконструкция позволила установить принадлежность исследуемых изолятов к трем различным геногруппам и четырем геновариантам. Две из трех геногрупп ЕСНО 9 (L и K) ранее описаны не были, а циркуляция геногруппы ω не обнаруживалась на территории Евразии до начала настоящих исследований.

Полученные результаты свидетельствуют о важной роли молекулярно-эпидемиологических исследований в системе надзора за циркуляцией неполиомиелитных энтеровирусов.

Ключевые слова: энтеровирус, молекулярная эпидемиология, ЕСНО 9, энтеровирусный менингит, эпидемиологический надзор.

Для цитирования: Молекулярная эпидемиология энтеровирусов, вызывающих тяжелые неврологические формы инфекции / Н. В. Поклонская [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 3. – С. 29–36.

N. V. Paklonskaya¹, T. V. Amvrosieva¹, S. K. Lozuk¹, Y. A. Shilova¹, Z. F. Bogush¹, N. M. Biskina²

¹Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

²Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Republic of Belarus

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF ENTEROVIRUSES CAUSING SEVERE NEUROLOGICAL INFECTION FORMS

Abstract. The study analyzes the molecular epidemiology of enteroviruses that caused severe neurologic forms of infection in Belarus in 2016.

The obtained results showed the predominating role of Echovirus 9 among the etiologic agents of enteroviral meningitis in 2016. The identified isolates of ECHO 9 revealed significant genetic heterogeneity: they belonged to 3 different genogroups and 4 genovariants. Two of the three genogroups of Echovirus 9 (L and K) were not previously described, and the circulation of the genogroup ω in Eurasia was not previously registered.

The results testify to the important role of molecular epidemiology in the surveillance system of non-polio enteroviruses.

Keywords: enterovirus, molecular epidemiology, human echovirus 9, enteroviral meningitis, epidemiological surveillance.

For citation: Paklonskaya N. V., Amvrosieva T. V., Lozuk S. K., Shilova Y. A., Bogush Z. F., Biskina N. M. Molecular epidemiology of enteroviruses causing severe neurological infection forms. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 29–36 (in Russian).

Введение. Энтеровирусы (род *Enterovirus*) – большая группа патогенных для человека микроорганизмов, которые способны вызывать широкий спектр клинических форм, начиная от легких (летний грипп, гастроэнтерит, везикулярный фарингит) и заканчивая тяжелыми, угрожающими жизни пациента (менингит, гепатит, миокардит, сепсисоподобная инфекция новорожденных). Неврологические формы энтеровирусной инфекции (менингиты, менингоэнцефалиты, энцефалиты) являются наиболее распространенными среди тяжелых клинических проявлений [1].

В Республике Беларусь в течение многих лет проводится регулярный эпидемиологический надзор за энтеровирусными инфекциями (ЭВИ). В 2016 г. показатель заболеваемости ЭВИ составил 24,11 на 100 тыс. населения, что в 1,7 раза выше, чем в 2015 г. При этом на территории двух регионов наблюдался рост тяжелых нейроинфекций: в Гомельской области и г. Минске преобладающей клинической формой ЭВИ был энтеровирусный менингит (49,5 и 30,6 % соответственно).

Цель работы – анализ результатов проведенных молекулярно-эпидемиологических исследований наблюдаемой в 2016 г. заболеваемости тяжелыми неврологическими формами энтеровирусной инфекции в отдельных регионах Республики Беларусь.

Материалы и методы исследования. Исследовано 126 проб спинномозговой жидкости (СМЖ) от пациентов с различными формами нейроинфекций, в том числе с августа по ноябрь – 59.

Детекцию энтеровирусов (ЭВ) в исследуемых пробах осуществляли методом ОТ-ПЦР с использованием наборов «Реверта», «Амплиценс® Enterovirus-FL» (Россия), «Тест-система для выявления энтеровирусов методом ПЦР с гибридационно-флюоресцентной детекцией продуктов реакции «ЭВ-ПЦР» (Республика Беларусь). РНК из проб выделяли с помощью набора «РИБО-преп» (Россия).

Для накопления фрагмента кДНК ЭВ и последующего секвенирования использовали комплект разработанных праймеров для гнездовой ПЦР, представленный в табл. 1. Первый раунд реакции (ОТ-ПЦР) проводили с использованием набора Script One Step RT-PCR Kit (JenaBioscience), второй – с применением реакционной смеси, содержащей 10 × ПЦР-буфер с с $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 3 мМ MgCl_2 , смесь дНТФ (по 200 мкМ каждого), праймеры первого раунда – по 30 пмоль/реакцию, второго – по 40 пмоль/реакцию, 2,5 ед. Таq-полимеразы. Реакцию проводили в следующих условиях: первый раунд: обратная транскрипция при 50 °С, преденатурация при 95 °С – 5 мин, затем 40 циклов при 95 °С – 5 мин, при 53 °С – 45 с, при 72 °С – 1 мин; 2-й раунд: 40 циклов при 95 °С – 30 с, при 53 °С – 30 с, при 72 °С – 30 с.

Секвенирование ДНК проводили методом терминации цепи с последующим анализом на ДНК-анализаторе SEQ8000.

Таблица 1. Праймеры для амплификации фрагмента гена VP1 энтеровирусов вида enterovirus B

Table 1. Primers for the amplification of the fragment of the gene VP1 of enteroviruses B

Название	Последовательность 5'-3'	Ориентация	Локализация в геноме ECHO 30
NestVP1F1	garacdggicayacitcicargt	Прямой	2550 → 2573
NestVP1R1	ccicchgigggbayrtacat	Обратный	2877 ← 2897
NestVP1F2	gayamiatvcaracimvcaygt	Прямой	2583 → 2606
NestVP1R2	gghggyayrtacatdakytgrtgdt	Обратный	2868 ← 2894

Поиск гомологичных последовательностей осуществляли в базе данных NCBI с помощью программы BLAST [3]. Для компьютерного анализа последовательностей (множественное выравнивание, определение эволюционных расстояний, филогенетическую реконструкцию и определение достоверности ее топологии) использовали программные продукты MEGA (Molecular evolutionary genetics analysis) версии 6.0 [4] и BLAST 1.7 [5].

Результаты и их обсуждение. Как известно, для ЭВИ характерна летне-осенняя сезонность (июнь–ноябрь). В 2016 г. подъем заболеваемости ЭВИ в Республики Беларусь начался раньше обычного – с апреля, а показатели заболеваемости достигли максимума в сентябре–октябре. На этот же период пришелся и рост заболеваемости энтеровирусным менингитом.

В результате ПЦР-анализа 126 проб СМЖ от пациентов с нейроинфекциями присутствие ЭВ подтверждено в 33 (26,2 %) из них. В период подъема заболеваемости энтеровирусным менингитом (с августа по ноябрь) исследовано 59 проб, из них положительными оказалось 30 (50,8 %). Все пробы, для которых был получен положительный результат, использовали для выделения ЭВ на двух культурах чувствительных клеток (RD, Нер2с). Ни в одной из проб инфекционный ЭВ выделить не удалось. В связи с этим было проведено молекулярное типирование ЭВ, обнаруженных в пробах ликвора, по фрагменту гена *VP1*, которое осуществляли в соответствии с установленными ранее критериями, согласно которым изолят относится к тому типу вируса, с прототипным штаммом которого он имеет не более 25 % отличий в нуклеотидной последовательности основного капсидного белка [6].

В результате молекулярного типирования 22 изолятов ЭВ (66,7 % всех положительных образцов) установлено, что 13 (59,0 %) из них принадлежат к вирусу ЕСНО 9, 5 (22,7 %) – к вирусу ЕСНО 16, 2 (9,0 %) – к вирусу ЕСНО 6, по 1 (4,5 %) изоляту – к вирусам ЕСНО 19 и Коксаки А9. Следует отметить, что абсолютное большинство вирусов ЕСНО 9 идентифицировано в пробах пациентов из Гомельской области и г. Минска, где энтеровирусные менингиты преобладали в структуре клинических форм ЭВИ. По результатам молекулярного типирования установлено, что зарегистрированный подъем заболеваемости неврологическими формами ЭВИ обусловлен вирусом ЕСНО 9, который был преобладающим и обнаруживался в ликворе 57,1 % пациентов.

Далее были проведены генетический анализ и филогенетическая реконструкция полученных фрагментов нуклеотидных последовательностей идентифицированных вирусов ЕСНО 9. Результаты сравнения всех выявленных у пациентов вирусов ЕСНО 9 показали, что по степени сходства их нуклеотидных последовательностей можно выделить две группы и два изолята, которые не вошли ни в одну из этих групп (табл. 2).

Таблица 2. Группирование изолятов ЕСНО 9 на основании генетического анализа фрагмента гена основного капсидного белка

Table 2. Grouping of ЕСНО 9 isolates on the basis of the genetic analysis of the fragment of the basic capsid protein gene

Группа	Номера изолятов	Доля различий в группе, %	Доля различий с другими группами, %	Регион циркуляции
1	14645, 15244	1,0	17–19,5	Минск, Гомельская обл.
2	14996, 15014, 15231, 15232, 15242	1,5–4,0	12–19,5	Минск, Гомельская обл.
3	15241	–	8,5–18,5	Гомельская обл.
4	15237	–	8,0–19,0	Могилевская обл.

Из табл. 2 видно, что идентифицированные в 2016 г. изоляты ЕСНО 9 принадлежали к 4 различным геновариантам вируса.

Следует отметить, что вирус ЕСНО 9 ранее уже циркулировал на территории Беларуси (он был идентифицирован в пробах клинического материала от пациентов с серозным менингитом в 2013–2014 гг.). Сравнение нуклеотидных последовательностей этих вирусов с таковыми, выделенными в 2016 г., выявило различия между ними в 7,2–18,8 %.

Сравнение нуклеотидных последовательностей выявленных нами вирусов ЕСНО 9 с имеющимися в базе данных GenBank, не позволило обнаружить значительное количество изолятов, циркулировавших в других странах и обладавших существенной (более 95 %) степенью сходства с анализируемыми. Изолят № 15237 – единственный из всех исследуемых (табл. 2, группа 4) продемонстрировал значительную степень сходства (97 %) с вирусами, циркулировавшими в Российской Федерации (изоляты из Нижнего Новгорода и Калининграда, 2009 г.) [7]. Изоляты из группы 1 (табл. 2, № 14645 и № 15244) обладали максимальной степенью сходства (91,2–91,8 %) с вирусами 2002–2003 гг. из Бразилии и Аргентины. Аргентинский геновариант ЕСНО 9 идентифицирован как доминирующий возбудитель нейроинфекций у детей в 2002 г. Бразильский геновариант ЕСНО 9 включал вирусы, обнаруженные у детей с экзантемными формами ЭВИ и идентифицированные в рамках программы эпидемиологического надзора за этой группой инфекций [8, 9]. Изоляты из группы 2 (табл. 2, № 14996, 15014, 15231, 15232, 15242,) обнаруживали максимальное сходство (90,2–91,2 %) с вирусами ЕСНО 9, которые были зарегистрированы в Испании в 2003 г., Пакистане и Нидерландах в 2009 г. Изолят № 15241 (табл. 2, группа 3) имел максимальное сходство с вирусами ЕСНО 9, идентифицированными в Индии в 2009 г. в рамках этиологического расследования неполиомиелитных случаев острого вялого паралича, а также в Шри-Ланке в том же году при установлении этиологии острого менингоэнцефалита [10, 11].

Таким образом, сравнительный генетический анализ нуклеотидных последовательностей выявил значительное разнообразие среди вирусов ЕСНО 9, вызвавших неврологические формы ЭВИ в нашей стране в 2016 г., но не позволил в полной мере охарактеризовать отдельные изоляты и их группы. Исходя из этого, проведена филогенетическая реконструкция с использованием двух различных алгоритмов – более простого и широко используемого алгоритма присоединения ближай-

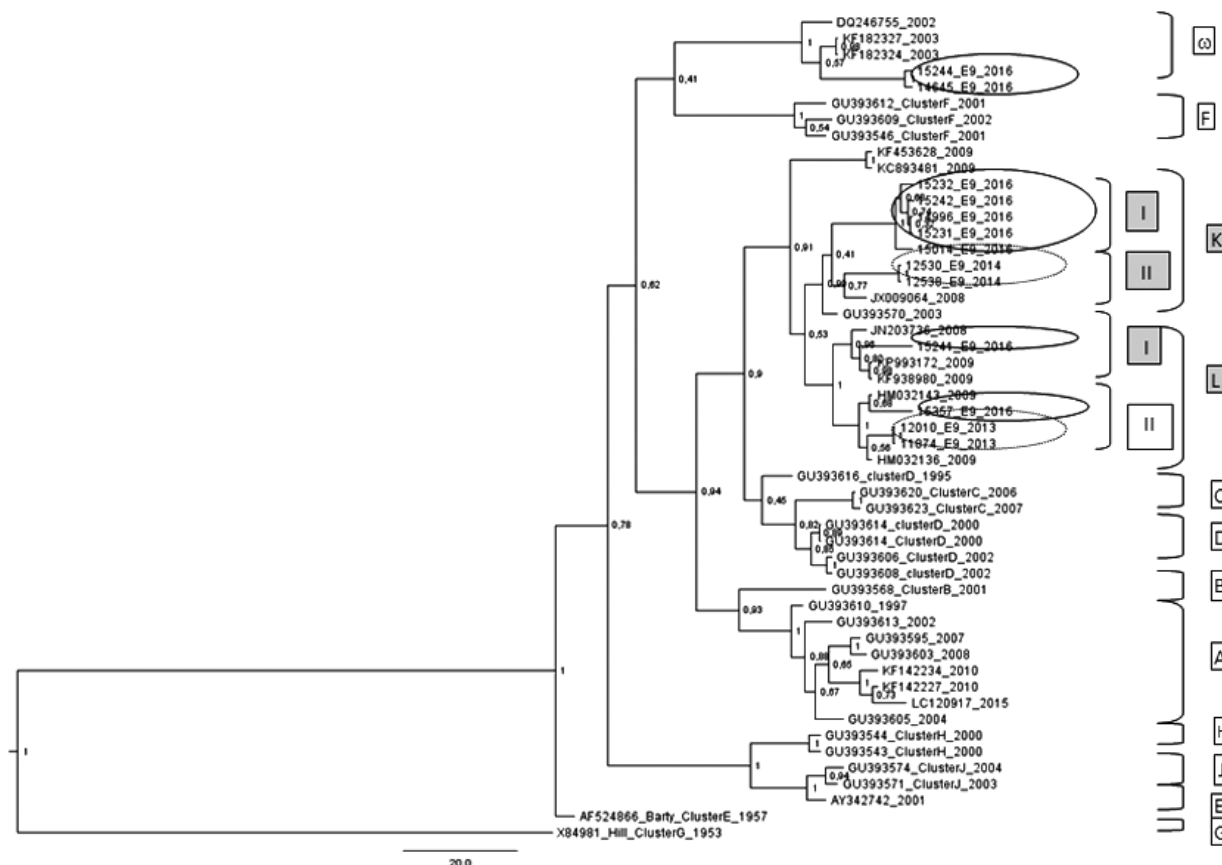
шего соседа (с использованием программы MEGA 6.0), а также алгоритма, основанного на теореме Байеса и методах Монте-Карло для цепей Маркова (с помощью пакета программ BEAST 1.7). Последний использован в связи с тем, что с помощью алгоритма присоединения ближайшего соседа не удалось получить филогенетическое древо с достаточной достоверностью топологии.

В настоящее время имеется несколько публикаций, посвященных молекулярной эпидемиологии вирусов ЕСНО 9, которые широко циркулируют в человеческой популяции [7–9, 11–13]. Авторы ряда работ уже выделяли отдельные генетические линии и геноварианты этого серотипа. Поэтому в филогенетическую реконструкцию помимо 14 исследуемых изолятов были включены также нуклеотидные последовательности выделенных в различное время в разных странах мира 46 референс-штаммов, которые генетически охарактеризованы ранее.

Результатом филогенетической реконструкции явилось древо, представленное на рисунке. Из рисунка видно, что все исследованные белорусские изоляты ЕСНО 9 достоверно формируют монофилетические кластеры как между собой, так и с вирусами, выделенными в других странах. На филогенетическом древе белорусские изоляты 2013–2016 гг. группировались в составе 6 отдельных кластеров, 4 из которых включали вирусы, обнаруженные у пациентов в 2016 г., и по одному кластеру – изоляты 2013 и 2014 гг. Все эти кластеры входили в состав трех довольно крупных геногрупп ЕСНО 9 – К, L, ω . Описанная ранее группа ω включала вирусы, циркулировавшие в 2002–2003 гг. в Бразилии и Аргентине [8, 9]. В эту же геногруппу в составе отдельного кластера входили белорусские изоляты 14645, 15244 (табл. 2, группа 1). Все остальные белорусские изоляты 2013, 2014 и 2016 г. входили в состав геногрупп К и L, которые не были описаны ранее, и формировали по два геноварианта внутри каждой из них. Геновариант К1 включал только белорусские изоляты, идентифицированные у пациентов с нейроинфекциями в 2016 г. (табл. 2, группа 2), геновариант К2 – белорусские изоляты, циркулировавшие в 2014 г., а также изолят, выделенный в Дании в 2008 г. Белорусские и датский вирусы были в значительной степени эволюционно удалены друг от друга, что вполне закономерно, учитывая значительное время, разделяющее периоды их циркуляции, но достоверно (апостериорная вероятность 0,77) группировались в составе одного геноварианта. Таким образом, вирусы ЕСНО 9, циркулировавшие в 2014 и 2016 гг., входили в состав одной геногруппы К, но принадлежали к разным геновариантам К1 и К2. Геногруппа L также включала два геноварианта – L1 и L2. В состав геноварианта L1 входили белорусский изолят № 15241, идентифицированный в 2016 г. (табл. 2, группа 3), а также изоляты, циркулировавшие в Индии и Шри-Ланке в 2009 г. [10, 11]. Несмотря на группирование в составе единого монофилетического кластера и наличие ближайшего общего предка на древе, эти изоляты также были существенно генетически удалены друг от друга, что согласуется со значительным географическим и временным расстоянием, разделявшим периоды и регионы их циркуляции. Геновариант L2 объединял вирусы, циркулировавшие в нашей стране в 2013 г. (№ 11874 и № 12010) и 2016 г. (№ 15347), а также в России в 2009 г. Данный геновариант описан ранее российскими исследователями как наиболее массовый в 2009 г. на разных территориях России [7]. Остальные геногруппы, ранее идентифицированные в составе вирусов ЕСНО 9 [12], на территории нашей страны не выявлены.

В представленной работе изложены результаты молекулярно-эпидемиологических исследований вирусов ЕСНО 9, вызвавших подъем заболеваемости энтеровирусными менингитами в двух регионах Республики Беларусь в 2016 г. Анализ данных лабораторной диагностики ЭВИ у пациентов с нейроинфекциями согласуется с эпидемиологическими данными о росте заболеваемости энтеровирусными менингитами: доля положительных на ЭВ образцов СМЖ, полученных в это же время и на территориях, где зарегистрирован их рост, значительно превышала таковую за 2016 г. в целом (50,9 и 26,2 % соответственно). Среди возбудителей энтеровирусных менингитов в 2016 г. заметно преобладали вирусы ЕСНО 9: они выявлены в 59,0 % проб, в которых удалось установить серотип возбудителя. Кроме них идентифицированы другие ЭВ, встречавшиеся значительно реже: ЕСНО 16 – 22,7 %, ЕСНО 6 – 9,0, ЕСНО 19 и Коксаки А9 – по 4,5 %.

Исходя из изложенного выше очевидно, что основную роль в формировании подъема заболеваемости энтеровирусными менингитами в 2016 г. в Республике Беларусь сыграли вирусы ЕСНО 9. Полученные результаты хорошо согласуются с опубликованными на сегодняшний день данными других исследователей о том, что вирус ЕСНО 9 является одним из доминирующих этиологических



Филогенетическая реконструкция на основании анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *VP1 60* изолятов и штаммов вируса ЕСНО 9, выполненная с помощью пакета программ BEAST 1.7. Изоляты 2016 г. обозначены сплошными овалами, изоляты 2013–2014 гг. – пунктирными овалами, геногруппы (A–L, ω) и геноварианты (I, II) в составе геногрупп – квадратными скобками

On the basis of the analysis of nucleotide sequences of the gene *VP1* fragment, the phylogenetic reconstruction of 60 isolates and strains of the virus ECHO 9 was made using BEAST 1.7. Isolates of the year 2016 are denoted by the solid ovals, isolates of the years 2013–2014 – by the dashed ovals, genogroups (A–L, ω) and genovariants (I, II) in the genogroups – by the square brackets

агентов серозного менингита, а также других энтеровирусных нейроинфекций [1]. Классическая и молекулярная эпидемиология вируса ЕСНО 9 активно изучалась исследователями разных стран мира [1, 7–8, 11–15]. В более ранних работах установлено, что вирус ЕСНО 9, как правило, носит эпидемический характер циркуляции, вызывая крупные сезонные подъемы заболеваемости на определенной территории приблизительно каждые 3 года [1, 15]. Так же как и другие серотипы ЭВ, ЕСНО 9 имеет чрезвычайно высокий уровень генетической изменчивости [7, 12]. При этом эпидемический характер распространения данного возбудителя приводит к тому, что в периоды подъемов вызванной им заболеваемости среди населения циркулируют вирусы, принадлежащие к одной и той же генетической линии и даже к одному геноварианту [12]. Исследования, проведенные на большом количестве изолятов ЕСНО 9, зарегистрированных с конца 1990-х годов по 2008 г. на обширной географической территории, показали, что вирусы, циркулировавшие в одном и том же регионе в течение длительного времени, очень близки: на территории различных стран Западной Европы циркулировал геновариант А, а в странах постсоветского пространства – геновариант С [12]. Аналогичные исследования, проведенные в Латинской Америке, также показали циркуляцию одного геноварианта (ω) в Бразилии и Аргентине [8, 9]. При этом данный геновариант до проведения настоящих исследований не обнаруживался на территории Евразии. Российские исследователи, изучавшие молекулярную эпидемиологию вирусов ЕСНО 9, выявленных в разных регионах России в 2007–2009 гг., показали возможность одновременной циркуляции нескольких геновариантов ЕСНО 9 на одной и той же территории – в их исследованиях одновременно идентифицированные изоляты имели 10–15 % и более различий в нуклеотидной последовательности капсидного белка VP1 [7].

Таким образом, из накопленных литературных данных следует, что для вирусов ЕСНО 9 характерен как эндемичный (длительная циркуляция одних и тех же геновариантов в пределах определенных географических регионов), так и эпидемический (быстрое распространение одного геноварианта, сопровождающееся эпидемическим подъемом заболеваемости) характер циркуляции, а также возможна генетическая гетерогенность вирусов, циркулирующих на одной территории [7, 12].

Представленные в настоящей работе результаты, с одной стороны, отражают обозначенные выше особенности молекулярной эпидемиологии данного возбудителя, с другой – имеют существенные отличия от закономерностей, ранее описанных в литературе [7–9, 12]. Они указывают на значительную генетическую гетерогенность обнаруженных в 2016 г. в Беларуси вирусов ЕСНО 9 – идентифицировано четыре различных геноварианта, принадлежащих к трем разным геногруппам. Среди идентифицированных геновариантов один (L2) является эндемичным как для Беларуси, так и для Европейского региона России: изоляты, принадлежащие этому геноварианту, идентифицированы в Беларуси с 2013 по 2016 г., а также на территории России начиная с 2009 г. [7]. Остальные три геноварианта, к которым принадлежали белорусские изоляты, объединяли вирусы ЕСНО 9, циркулировавшие в различные периоды времени на очень удаленных друг от друга территориях. Так, генетическая линия ω помимо белорусских изолятов 2016 г. включала вирусы, циркулировавшие в Бразилии и Аргентине (2002–2003 гг.), геновариант L2 – вирусы из Беларуси (2016 г.), Индии и Шри-Ланки (2008–2009 гг.). Такое широкое распространение одних и тех же геновариантов или генетических линий вирусов ЕСНО 9 ранее описано не было. Эти данные указывают на то, что отдельные геноварианты вирусов ЕСНО 9 могут распространяться глобально в пределах земного шара и их циркуляция далеко не всегда является эндемичной для определенных географических регионов, как предполагалось ранее [12].

Еще одной особенностью, выявленной в наших исследованиях и не описанной в предыдущих работах, является генетическая гетерогенность циркулировавших в 2016 г. вирусов ЕСНО 9, несмотря на эпидемический характер их циркуляции. Так, в период эпидподъема на территории Минска и Гомельской обл. идентифицировано три геноварианта ЕСНО 9. Результаты же исследований, проведенных другими авторами, которые изучали молекулярную эпидемиологию ЕСНО 9 в периоды вспышек и эпидподъемов, указывали на то, что их этиологические агенты генетически весьма сходны и принадлежат к одному и тому же геноварианту [12]. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что молекулярная эпидемиология ЭВ в целом и вирусов ЕСНО 9 в частности может быть гораздо более сложной и при ее дальнейшем, более глубоком изучении могут быть получены новые данные, более полно отражающие закономерности циркуляции вирусов в человеческой популяции.

Одним из возможных объяснений наблюдаемой генетической гетерогенности популяции вирусов ЕСНО 9 может быть их прямое секвенирование из клинического материала, без выделения на культурах чувствительных клеток млекопитающих (RD, Нер-2с). Следует отметить, что начиная с 1996 г. нам не удалось выделить ни одного изолята ЕСНО 9, несмотря на наличие богатой коллекции других энтеровирусных серотипов, изолированных из клинического материала пациентов в течение 20-летнего периода мониторинга за ЭВИ в Республике Беларусь. Можно предположить, что используемые для выделения культуры клеток млекопитающих имеют низкую чувствительность к вирусам ЕСНО 9, что подтверждается данными зарубежной литературы. Так, в 2006 г. исследователями из США проведен ретроспективный анализ эффективности выделения ЭВ в культурах клеток млекопитающих. В результате в культуре клеток РМК удалось выделить ЕСНО 9 из 93 % используемых проб клинического материала, а в культуре RD (рекомендуется ВОЗ для выделения неполиомиелитных ЭВ, была использована в настоящих исследованиях) – только из 1 % проб [16]. Из этого следует, что клеточная линия RD не является оптимальной для выделения вирусов ЕСНО 9. Хотя, вследствие значительного их генетического разнообразия, среди всех циркулирующих геновариантов, безусловно, могут встречаться и те, которые способны размножаться в клетках RD. Таким образом, при выделении полноценных изолятов вируса ЕСНО 9 в культурах чувствительных клеток происходит селекция только тех геновариантов, которые способны в них размножаться. Последующее их секвенирование приводит к тому, что значительная часть циркулировавших геновариантов остается не идентифицированной. В свою очередь те исследователи, которые анализируют непосредственно вирусную РНК из клинических проб (прямое секвенирование продуктов ОТ-ПЦР), обнаруживают значи-

тельно больше одновременно циркулировавших геновариантов. Подтверждением этого могут быть опубликованные данные российских исследователей [7], а также представленные в настоящей работе результаты об одновременной циркуляции нескольких геновариантов ЕСНО 9.

Заклучение. В результате проведенных исследований установлено, что основным этиологическим агентом подъема заболеваемости неврологическими формами ЭВИ в Минске и Гомельской области в 2016 г. были вирусы ЕСНО 9. Анализ нуклеотидных последовательностей идентифицированных изолятов ЕСНО 9 показал их значительную генетическую гетерогенность. Филогенетическая реконструкция позволила установить принадлежность исследуемых изолятов к трем различным геногруппам и четырем геновариантам. Две из трех геногрупп ЕСНО 9 (L и K) ранее описаны не были, а циркуляция геногруппы ω не обнаруживалась на территории Евразии до начала настоящих исследований. Один из идентифицированных геновариантов носил эндемичный характер циркуляции и выявлен на территории Беларуси в 2013 г., циркуляция остальных геновариантов до 2016 г. в нашей стране не зарегистрирована.

Полученные результаты свидетельствуют о важной роли молекулярно-эпидемиологических исследований в системе надзора за циркуляцией неполиомиелитных ЭВ с целью выявления новых возбудителей и их геновариантов и прогнозирования возможных сценариев развития эпидемиологической ситуации по энтеровирусным инфекциям.

Список использованных источников

1. Enterovirus surveillance – United States, 1970–2005 / N. Khetsuriani [et al.] // *MMWR Surveill. Summ.* – 2006. – Vol. 55. – P. 1–20.
2. Актуальные проблемы энтеровирусных инфекций в Республике Беларусь [Электронный ресурс] / Т. В. Амвросьева [и др.] // *Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Респ. науч.-практ. центр эпидемиологии и микробиологии; под ред. Л. П. Титова.* – Минск, 2016. – 1 эл. опт. диск (CD-ROM). – Вып. 9. – С. 9–15.
3. Basic local alignment search tool / S. Altschul [et al.] // *J. Mol. Biol.* – 1990. – Vol. 215, N 3. – P. 403–410.
4. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0 / K. Tamura [et al.] // *Mol. Biol. Evol.* – 2013. – Vol. 30, N 12. – P. 2725–2729.
5. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7 / A. J. Drummond [et al.] // *Mol. Biol. Evol.* – 2012. – Vol. 29, N 8. – P. 1969–1973.
6. Typing of human enteroviruses by partial sequencing of VP1 / M. S. Oberste [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 1999. – Vol. 37, N 5. – P. 1288–1293.
7. Молекулярно-генетические варианты вируса ЕСНО9, идентифицированные у больных серозным менингитом в России в 2007–2009 гг. / Л. Н. Голицына [и др.] // *Вопр. вирусологии.* – 2011. – Т. 56, № 6. – С. 37–42.
8. Rubella virus genotype 1G and echovirus 9 as etiologic agents of exanthematous diseases in Brazil: insights from phylogenetic analysis / C. A. Figueiredo [et al.] // *Arch. Virol.* – 2014. – Vol. 159, N 6. – P. 1445–1451.
9. Molecular and epidemiologic analysis of enterovirus B neurological infection in Argentine children / A. S. Mistchenko [et al.] // *J. Clin. Virol.* – 2006. – Vol. 37, N 4. – P. 293–299.
10. Rao, C. D. Antigenic diversity of enteroviruses associated with nonpolio acute flaccid paralysis, India, 2007–2009 / C. D. Rao, P. Yergolkar, K. S. Shankarappa // *Emerg. Infect. Dis.* – 2012. – Vol. 18, N 11. – P. 1833–1840.
11. Acute meningoencephalitis associated with echovirus 9 infection in Sri Lanka, 2009 / N. Danthanarayana [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2015. – Vol. 87, N 12. – P. 2033–2039.
12. Evolutionary dynamics and temporal/geographical correlates of recombination in the human enterovirus echovirus types 9, 11, and 30 / E. C. McWilliam Leitch [et al.] // *J. Virol.* – 2010. – Vol. 84, N 18. – P. 9292–9300.
13. Molecular evolution of human echovirus 9 isolated from patients with aseptic meningitis in northern Kyushu during the summer of 1997 / K. Hara [et al.] // *Microbiol Immunol.* – 2001. – Vol. 45, N 10. – P. 717–720.
14. Viral meningitis due to echovirus types 6 and 9: epidemiological data from Western Australia / M. J. Ashwell [et al.] // *Epidemiol. Infect.* – 1996. – Vol. 117, N 3. – P. 507–512.
15. Echovirus type 9 is an important cause of viral encephalitis among infants and young children in Kuwait / A. Dalwai [et al.] // *J. Clin. Virol.* – 2009. – Vol. 44, N 1. – P. 48–51.
16. Comparison of multiple shell vial cell lines for isolation of enteroviruses: a national perspective / R. C. She [et al.] // *J. Clin. Virol.* – 2006. – Vol. 37, N 3. – P. 151–155.

References

1. Khetsuriani N., LaMonte-Fowlkes A., Oberst M. S., Pallansch M. A. Enterovirus surveillance – United States, 1970–2005. *MMWR Surveillance Summary*, 2006, vol. 55, pp. 1–20.
2. Амвросьева Т. В., Богущ З. Ф., Бискина Н. М., Паклонская Н. В., Лозук С. К. Actual problems of enterovirus infections in Republic of Belarus. *Sovremennye problemy infektsionnoi patologii cheloveka* [Modern problems of human infectious pathology], in Titov L. P. (ed.). Minsk, 2016, 1 electronic optical disc (CD-ROM), iss. 9, pp. 9–15.
3. Altschul S., Gish W., Miller W., Myers E. W., Lipman D. J. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 1990, vol. 215, no. 3, pp. 403–410. doi: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2.

4. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, vol. 30, no. 12, pp. 2725–2729. doi: 10.1093/molbev/mst197.
5. Drummond A. J., Suchard M. A., Xie D., Rambaut A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, 2012, vol. 29, no. 8, pp. 1969–1973. doi: 10.1093/molbev/mss075.
6. Oberste M. S., Maher K., Kilpatrick D. R., Flemister M. R., Brown B. A., Pallansch M. A. Typing of human enteroviruses by partial sequencing of VP1. *Journal of Clinical Microbiology*, 1999, vol. 37, no. 5, pp. 1288–1293.
7. Golitsyna L. N., Fomina S. G., Novikova N. A., Epifanova N. V., Parfenova O. V., Lukovnikova L. B., Zverev V. V., Ponomareva N. V., Mazepa V. N., Grigor'eva G. I., Efimov E. I. Molecular genetic variants of the virus ESNO9, identified in patients with serous meningitis in Russia in 2007–2009. *Voprosy virusologii* [Virological issues], 2011, vol. 56, no. 6, pp. 37–42. (in Russian).
8. Figueiredo C. A., Luchs A., Russo D. H., R. Carmona Compagnolide Cassia, Afonso A. M., de Oliveira M. I., Curti S. P., de Moraes J. C., Toscano C. M., Ciccone F. H., Timenetsky Mdo C. Rubella virus genotype 1G and echovirus 9 as etiologic agents of exanthematous diseases in Brazil: insights from phylogenetic analysis. *Archives of Virology*, 2014, vol. 159, no. 6, pp. 1445–1451. doi: 10.1007/s00705–013–1935–9.
9. Mistchenko A. S., Viegas M., Latta M. P., Barrero P. R. Molecular and epidemiologic analysis of enterovirus B neurological infection in Argentine children. *Journal of Clinical Virology*, 2006, vol. 37, no. 4, pp. 293–299. doi: 10.1016/j.jcv.2006.08.009.
10. Rao C. D., Yergolkar P., Shankarappa K. S. Antigenic diversity of enteroviruses associated with nonpolio acute flaccid paralysis, India, 2007–2009. *Emerging Infectious Diseases*, 2012, vol. 18, no. 11, pp. 1833–1840. doi: 10.3201/eid1811.111457.
11. Danthanarayana N., Williams D. T., Williams S. H., Thevanesam V., Speers D. J., Fernando M. S. Acute meningoencephalitis associated with echovirus 9 infection in Sri Lanka, 2009. *Journal of Medical Virology*, 2015, vol. 87, no. 12, pp. 2033–2039. doi: 10.1002/jmv.24267.
12. McWilliam Leitch E. C., Cabrerizo M., Cardosa J., Harvala H., Ivanova O. E., Kroes A. C., Lukashev A., Muir P., Odoom J., Roivainen M., Susi P., Trallero G., Evans D. J., Simmonds P. Evolutionary dynamics and temporal/geographical correlates of recombination in the human enterovirus echovirus types 9, 11, and 30. *Journal of Virology*, 2010, vol. 84, no. 18, pp. 9292–9300. doi: 10.1128/JVI.00783–10.
13. Hara K., Kashiwagi T., Ohtsu Y., Masunaga K., Akasu-Tsuji Y., Tsumura N., Kato H., Iwahashi J., Hamada N., Toyoda M., Toyoda T. Molecular evolution of human echovirus 9 isolated from patients with aseptic meningitis in northern Kyushu during the summer of 1997. *Microbiology and Immunology*, 2001, vol. 45, no. 10, pp. 717–720.
14. Ashwell M. J., Smith D. W., Phillips P. A., Rouse I. L. Viral meningitis due to echovirus types 6 and 9: epidemiological data from Western Australia. *Epidemiology and Infection*, 1996, vol. 117, no. 3, pp. 507–512.
15. Dalwai A., Ahmad S., Pacsa A., Nakib Al W. Echovirus type 9 is an important cause of viral encephalitis among infants and young children in Kuwait. *Journal of Clinical Virology*, 2009, vol. 44, no. 1, pp. 48–51. doi: 10.1016/j.jcv.2008.10.007.
16. She R. C., Crist G., Billetdeaux E., Langer J., Petti C. A. Comparison of multiple shell vial cell lines for isolation of enteroviruses: a national perspective. *Journal of Clinical Virology*, 2006, vol. 37, no. 3, pp. 151–155. doi: 10.1016/j.jcv.2006.06.009.

Информация об авторах

Поклонская Наталья Владимировна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com.

Амвросьева Тамара Васильевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: amvrosieva@gmail.com, labsanvir@gmail.com.

Лозюк Светлана Константиновна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com.

Шилова Юлия Александровна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com.

Богущ Зоя Федоровна – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com.

Бискина Нинель Михайловна – врач-эпидемиолог. Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (ул. К. Цеткин, 4, 220099, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: biskina@rche-ph.by.

Information about the authors

Natalia V. Paklonskaya – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com.

Tamara V. Amvrosieva – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: amvrosieva@gmail.com.

Svetlana K. Lozyuk – Junior researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com.

Yuliya A. Shilova – Junior researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com.

Zoya F. Bohush – Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com.

Ninel M. Biskina – Epidemiologist. Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health (4, K. Tsetkin Str., 220099, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: biskina@rche-ph.by.

А. Н. Михайлов¹, И. С. Абельская^{1,2}, Э. Е. Малевич^{1,2}, Т. Н. Лукьяненко¹, В. В. Жарнова³¹*Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь*²*Республиканский клинический медицинский центр**Управления делами Президента Республики Беларусь, Минск, Республика Беларусь*³*Гродненский государственный университет им. Я. Купалы, Гродно, Республика Беларусь***ЛУЧЕВЫЕ ЭКСПЕРТНЫЕ КРИТЕРИИ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕ ДЕГЕНЕРАТИВНО-ДИСТРОФИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ШЕЙНОМ ОСТЕОХОНДРОЗЕ****Аннотация.** В статье приведены лучевые экспертные критерии дегенеративно-дистрофических изменений в позвоночно-двигательных сегментах при шейном остеохондрозе у 500 пациентов в возрасте от 20 до 78 лет.

Проведенный анализ лучевых изображений шейного отдела позвоночника выявил особенности рентгенологической картины переднего и заднего опорных комплексов позвоночника при шейном остеохондрозе. Особые трудности представляет установление его хрящевой стадии (хондрозе или дискозе). Применение таких высокотехнологических методов, как рентгеновская компьютерная томография (РКТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ), не эффективно. Только функциональная спондилография позволяет рано обнаружить I стадию при остеохондрозе. Причем снимки нужно делать в боковой проекции при вертикальном положении пациента в режиме рентгеноскопии во время разгибания и сгибания исследуемого отдела на всех этапах движения, с фиксированием «стоп-кадров» с целью анализа положения тел позвонков. В период остеохондроза имеют место уже морфологические изменения, которые хорошо визуализируются РКТ и МРТ.

Ключевые слова: остеохондроз, шейный отдел позвоночника, лучевая диагностика, функциональная спондилография**Для цитирования:** Лучевые экспертные критерии, характеризующие дегенеративно-дистрофические изменения при шейном остеохондрозе / А. Н. Михайлов [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2017. – № 3. – С. 37–44.**A. N. Mikhailov¹, I. S. Abelskaya^{1,2}, E. E. Malevich^{1,2}, T. N. Lukyanenko¹, V. V. Zharnova³**¹*Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus*²*Republican Clinical Medical Center of the Administration of the President of the Republic of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*³*Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Republic of Belarus***X-RAY EXPERT CRITERIA CHARACTERIZING DEGENERATIVE-DYSTROPHIC CHANGES IN CERVICAL OSTEOCHONDROSIS****Abstract.** The article presents the X-ray expert criteria of degenerative-dystrophic changes in spinal-motor segments in 500 patients with cervical osteochondrosis between the ages of 20 and 78. The conducted spine X-ray analysis has revealed special features of X-ray presentations of anterior and posterior bearing complexes of the spine in cervical osteochondrosis. Special difficulties occur in establishing its cartilaginous stage (chondrosis or discosis). Such high-tech methods as CT and MRI are ineffective. Only functional spondylography is able to early detect stage I in osteochondrosis. Moreover, the images should be done in the lateral projection with the vertical orientation of a patient in the fluoroscopy mode during the unbending and bending of an examined part at all movement stages when fixing «stop-frames» to analyze the positions of vertebral bodies. During the period of osteochondrosis, morphological changes are taking place which are well visualized by CT and MRI.**Keywords:** osteochondrosis, cervical spine, X-ray diagnosis, functional spondylography**For citation:** Mikhailov A. N., Abelskaya I. S., Malevich E. E., Lukyanenko T. N., Zharnova V. V. X-ray expert criteria characterizing degenerative-dystrophic changes in cervical osteochondrosis. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Serya medytsynskih nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 37–44 (in Russian).**Введение.** Дегенеративно-дистрофические заболевания (ДДЗ) позвоночника широко распространены среди населения, составляя от 40 до 80 % всех заболеваний периферической нервной системы. В связи с этим их социальная значимость исключительно велика. Первым шагом в решении этой проблемы должно стать создание стандартов диагностики и лечения ДДЗ, т. е. перечня базисных методик и мероприятий, применение которых значимо для достижения высокой эффек-

тивности оказания специализированной медицинской помощи пациентам. Для выполнения этой работы необходимо прежде всего стандартизировать и предложить корректную классификацию ДДЗ, которая должна соответствовать современным представлениям об этиологии и патогенезе этой группы заболеваний [1–6].

Частота различных неврологических синдромов варьируется в больших пределах. Так, в группе пациентов, оперированных по поводу ДДЗ, чаще всего встречаются радикуломиелопатии (25–30 %), а радикулярные синдромы относительно редки (10–15 %). В поликлинике же, наоборот, наблюдаются пациенты либо вообще без неврологического дефицита (70 %), либо с корешковыми синдромами (25 %). Радикуломиелоишемические синдромы и синдромы компрессионной миелопатии составляют на амбулаторном приеме 5–15 % [6–8].

ДДЗ шейного отдела позвоночника (ШОП) относятся к мультифакторным заболеваниям. По сути, это болезни дезапатии, генетическая компонента которых наследуется мультифакторно. С точки зрения системного подхода не существует различий в этиологии остеохондроза, спондилоатроза, спондилеза, остеохондропатии и т. д. ДДЗ ШОП имеют свою особенность, отличающую их от ДДЗ грудного и поясничного отделов позвоночника. Неврологические проявления остеохондроза ШОП могут быть радикулярными, спинальными радикуломиелоишемическими и спинальными компрессионными [3, 6–10].

Современный уровень клинической вертебрологии должен стать достоянием каждого практикующего врача. Именно от квалификации невропатологов, ортопедов-травматологов общей практики и врачей лучевой диагностики, от их умения быстро и обоснованно поставить правильный диагноз и оптимально построить план лечения зависят судьбы пациентов.

Повышение качества диагностики дегенеративных заболеваний позвоночника возможно за счет создания новой аппаратуры, а также разработки более точных и достоверных методов исследования, на что направлено все внимание медицинской и медико-технической мысли. Однако на этом пути имеются большие трудности, и не стоит рассчитывать на то, что высокотехнологические методы исследования решат проблему диагностики [11–13].

Накопленный большой опыт применения рентгеновской компьютерной томографии (РКТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ) в диагностике болезней позвоночника свидетельствует о том, что надежды на решение всех диагностических проблем с их помощью неоправданны. Ошибки диагностики встречаются довольно часто и связаны с не только с ограниченностью самого метода исследования, но и с неоднозначной интерпретацией полученных данных [8, 14–16].

Современные методы РКТ и МРТ сделали огромный скачок в области лучевой диагностики, но они всего лишь дают возможность получить информацию, которая, хотя и имеет иногда решающее значение, остается только информацией для установления диагноза, но не самим диагнозом. Более того, эти высокотехнологические методы имеют некоторые ограничения, поэтому во многих случаях дают ложноположительные или ложноотрицательные результаты. Поэтому сам диагностический процесс как частный случай принятия оптимального решения, основанного на адекватном получении, хранении и обработке информации, остается неизменным [4, 6, 9].

Материалы и методы исследования. Нами обследовано 500 пациентов (283 (56,6 %) мужчины, 217 (43,4 %) женщин) в возрасте от 20 до 78 лет, средний возраст которых составлял $40,5 \pm 0,5$ года.

При анализе возрастного состава пациентов установлено, что в I периоде зрелого возраста (31–35 лет) было 36 (75,0 %) обследуемых, во II периоде зрелого возраста (46–50 лет и 51–60 лет) – 78 (23,1 %) и 209 (62,0 %) соответственно.

Среди пациентов с неврологическими проявлениями шейного остеохондроза у 108 (22,6 %) наблюдалась цервикалгия, у 206 (41,2 %) – цервикокраниалгия, у 186 (37,2 %) – цервикобрахиалгия. У большинства пациентов с корешковым синдромом (130, или 69,8 %) имелось поражение корешков С6 (31,1 %) и С7 (33,8 %), которое у 37,6 % сочеталось с компрессионными нарушениями.

Главным рентгенологическим методом исследования пациентов с шейным остеохондрозом является бесконтрастная рентгенография. Обзорные рентгенограммы производились в двух взаимно перпендикулярных плоскостях – прямой и боковой, а также в двух косых проекциях. Расстояние от трубки до пленки составляло 60–70 см, а при телерентгенографии (увеличенные снимки) – 1,5–2 м.

Кроме обычных снимков у некоторых пациентов, по показаниям, применяли функциональное рентгенологическое исследование при максимальном сгибании и разгибании стоя или в сидячем положении. Полученные снимки дали возможность оценить состояние каждого позвоночно-двигательного сегмента (ПДС) в отдельности, определить его блокаду или нестабильность. Рентгеновская количественная компьютерная томография (РККТ) ШОП проведена с целью анализа рентгеноденситометрических характеристик костных структур позвоночных сегментов и оценки минеральной плотности кости (программное обеспечение системы денситометрии и аналитических процедур изображения измерения минеральной плотности кости (quantitative computed tomography (QCT-5000) Bone densitometry procedures for the measurement of bone mineral densite (BMD)).

Результаты и их обсуждение. При изучении рентгеновского изображения ПДС особое значение приобретает знание анатомии и физиологии ШОП. Последний имеет сложную геометрию, обеспечивает полиморфность движений, в результате чего многократные механические воздействия могут быть направлены как к каждому позвонку, так и на ШОП в целом. ШОП состоит из ПДС, которые включают два смежных позвонка, межпозвонковый диск, межпозвонковые суставы и мышечно-связочный аппарат.

Включение защитных механизмов при шейном остеохондрозе, обусловленное многофакторным внешним воздействием гравитационных и антигравитационных сил, приводит к развитию патологической биомеханики в ШОП, а затем и к микро- и макроструктурным изменениям. В результате тела позвонков деформируются, костные структуры изменяют свою внутреннюю архитектуру посредством ремоделирования костной ткани, что оказывает влияние на геометрию кости и вызывает деформационные изменения элементов позвоночных сегментов.

Распознавание ДДЗ позвоночника нередко сопряжено с большими трудностями, часто обуславливающими диагностические ошибки. Причинами ошибок бывают: неправильное толкование результатов рентгенологических исследований, особенно сложных; неопытность рентгенолога; противопоказания к проведению исследования и тяжелое состояние пациента. Наконец, существует предел у каждой методики исследования.

Главными условиями повышения качества диагностики являются анализ и формализация этапов, приемов и методов врачебного мышления. Успех диагностики ДДЗ позвоночника зависит от многих факторов: во-первых, рентгенолог должен хорошо знать рентгено-анатомические особенности органа и отличать его нормальное состояние от патологического; во-вторых, ему необходимо владеть не только основными, но и специальными методиками исследования; в-третьих, в протоколе исследования следует правильно описывать лучевое изображение как пораженного органа в целом, так и патологического процесса в частности; в-четвертых, нужно так интерпретировать лучевые симптомы, чтобы все врачи, читающие заключение, поняли его однозначно; в-пятых, лучевое исследование пациента должно вестись по пути клинической диагностики с целью установления клинико-лучевого диагноза.

Для качественной и своевременной диагностики необходимо знать наиболее существенные клинические и параклинические признаки, которые отличают различные варианты заболевания. Без знания существенных признаков ДДЗ позвоночника, их происхождения и механизма врачу трудно представить, какие структурные и функциональные изменения имеются в позвоночных сегментах в данное время, и предвидеть их динамику под влиянием проведенного лечения.

Итак, какие же экспертные критерии, характеризующие ДДЗ позвоночника, имеют значение при формулировке заключения? Какова роль рентгенографии, компьютерной и магнитно-резонансной томографии в визуализации ДДЗ позвоночника и в установлении стадии дегенерации? *Необходимо помнить, что нельзя объять необъятное, нужны знания в оптимальном, но достаточном для диагностики объеме, а несущественное – излишне.*

При ДДЗ позвоночника необходима рентгеновская спондилография, а в диагностике большую роль, безусловно, играет рентгеновская симптоматика. Но к данным рентгенологического исследования нужно относиться как к информации, которая может быть нужна для дифференциальной диагностики и установления развернутого диагноза, а может быть и не нужна. Все зависит от того, насколько информативна выявленная клиническая симптоматика, достаточно ли ее для установления диагноза и каков допустимый уровень ошибки.

Некоторые ошибки в постановке диагноза вполне приемлемы. Утверждение, что диагноз должен быть всегда абсолютно точным, – не более чем декларация, ибо цель эта недостижима, если под абсолютно точным диагнозом подразумевается полное знание о состоянии организма человека, в том числе его изменений в процессе лечения. Более того, знать ради самого знания не имеет смысла. Диагноз нужен для принятия решений о выборе способа лечения, для проведения лечебных мероприятий и контроля результата врачебных действий [3, 6, 10].

В развитии остеохондроза различают два периода: хрящевой (хондроз или дискоз) и костнохрящевой (остеохондроз). Рентгенологические признаки их различны. Так, рентгенологическими признаками дискоза (хондроза) являются: нарушение статики пораженного отдела позвоночника (выпрямление физиологического лордоза (симптом струны), смещение или соскальзывание позвонков (симптом лесенки), ротация позвонков и др.); нарушение биомеханики позвоночника (нестабильность в ПДС, гипер- и гипомобильность в ПДС); снижение высоты межпозвонкового диска; отсутствие деформаций и деструктивных изменений позвонков.

Для того чтобы выявить признаки дискоза (хондроза), на кафедре лучевой диагностики БелМАПО разработан способ функционального исследования позвоночника (патент на изобретение ВУ № 11863 СИ), который включает выполнение рентгенограмм в боковой проекции, в вертикальном положении, в условиях естественной нагрузки. Предложенный способ отличается тем, что выполняются множественные рентгенограммы в режиме скопии с максимальным диафрагмированием во время разгибания или сгибания исследуемого отдела позвоночника на всех этапах движения.

Автоматизация рабочего места врача-рентгенолога (а также использование современного цифрового аппарата) позволяет зафиксировать множественные «стоп-кадры» во время разгибания или сгибания в режиме скопии и детально изучить функциональные состояния позвоночника, выявить нестабильность того или иного сегмента и появление локального кифоза на том или ином уровне. Метод позволяет зафиксировать и произвести детальный анализ положения тел позвонков на пике болевого синдрома во время движения, определить состояние физиологического лордоза.

Преимущество данного способа состоит в том, что исследование производится не только в естественном вертикальном положении пациента, в котором он проводит большую часть времени, но и в движении, когда можно изучить как амплитуду сгибания и разгибания (учитывая выраженность болевого синдрома), так и смещаемость позвонков относительно друг друга на любом этапе движения в передне-заднем направлении. При этом можно изучить форму тел позвонков в боковой проекции, наличие краевых костных разрастаний, а также высоту межпозвонковых дисков.

Для подобного исследования не нужно специального дополнительного оборудования, необходимо подключение автоматизированного рабочего места к первому рабочему месту или наличие современного цифрового аппарата, чтобы производить «стоп-кадр» необходимое количество раз. Метод позволяет контролировать изображение визуально, а также вернуться в любое исходное положение, изучить как процесс сгибания, так и процесс разгибания в зависимости от жалоб пациента и поставленной лечащим врачом цели. Метод экономичен, поскольку рентгенограмма (РГМ) не производится, лучевая нагрузка также невелика. Перенос информации может осуществляться на дискету или компакт-диск, на бумагу, а также с помощью принт-сервера может быть перенесен на любой компьютер, подключенный к локальной сети.

Способ может быть использован для диагностики ранних стадий дегенеративно-дистрофических изменений позвоночника (I–II стадия: I стадия – выпрямление физиологического лордоза, II стадия – нестабильность в позвоночно-двигательном сегменте с развитием в нем подвывиха и торсии позвонков, снижение высоты межпозвонкового диска).

При нарушении статики ШОП нами разработан способ определения выпрямления лордоза ШОП (заявка на изобретение ВУ № а20160750). Способ осуществляется путем производства РГМ пациента в ортостатическом положении. На этих РГМ определяется угол отклонения тел позвонков в сагиттальной проекции относительно вертикальной оси путем проведения по задней поверхности тела позвонка вертикальной линии. Последняя выстраивается автоматически при наличии соответствующего пакета программ. Сама вертикальная линия является нулевым углом.

Дальнейший расчет результатов рентгенографии производится в автоматическом режиме следующим образом. Проводится сопоставление измеренных углов с таковыми у здоровых лиц

соответствующей возрастной группы. Для этого строится график отклонения позвонков по вертикали для позвоночника в норме. По оси абсцисс расположены номера позвонков согласно общепринятой классификации, по оси ординат – углы отклонения позвонков от вертикали в градусах.

Преимущество метода состоит в том, что исследование можно проводить на цифровом рентгенологическом аппарате. Для измерения угла необходимо только провести линию по задней поверхности тела (координаты вертикальной оси можно сразу заложить в пакет программ). Дальнейший анализ полученных данных (углы отклонения позвонка от вертикали) можно проводить при помощи соответствующего пакета программ, который позволяет сопоставить данные пациента и здоровых лиц соответствующей возрастной группы путем построения графика. Метод прост в исполнении, объективен, поскольку обработка полученных результатов происходит независимо от опыта практикующего врача. Полученные данные могут длительное время сохраняться в памяти компьютера и передаваться в другие учреждения как в электронном варианте, так и на бумажном носителе.

Вторая стадия дегенеративно-дистрофического процесса характеризуется изменениями не только хрящевых, но и костных структур. Это костно-хрящевой период остеохондроза, при котором имеют место следующие рентгенологические признаки: нарушение формы пораженного отдела – $24,6 \pm 3,9$ %; краевые костные разрастания (остеофиты) – $64,7 \pm 4,3$; утолщения или уплотнения замыкательных пластинок тел позвонков – $70,5 \pm 4,1$; субхондральный остеохондроз – $67,2 \pm 4,2$; снижение высоты межпозвонковых дисков – $68,8 \pm 4,2$; обызвествление тел позвонков; скошенность углов позвонков – $50,0 \pm 4,5$; деформация крючковидных отростков – $22,9 \pm 3,8$ %; патологическая подвижность, которая по мере увеличения деформации уменьшается вплоть до полной неподвижности с формированием функционального блока.

У лиц с болевыми и мышечно-тоническими синдромами дегенеративно-дистрофические изменения (ДДИ) в сегментах С4–С6 выявлялись у $90,2 \pm 2,75$ %, нарушение физиологического лордоза – у $87,9 \pm 2,9$, уменьшение амплитуды и гармонизации движения – у $93,4 \pm 2,2$ %.

Таким образом, независимо от нозологической формы дегенеративного процесса в конечном итоге формируется тотальное поражение всех элементов ПДС. В шейном отделе развиваются и специфичные для этого отдела изменения, а именно унковертебральный артроз. Артроз унковертебральных сочленений бывает двух типов: деформирующий и склерозирующий. При деформирующем артрозе костные разрастания развиваются вдоль всего края полулунного отростка. Последний заостряется, удлиняется, отклоняется латерально, принимает горизонтальное положение. При двустороннем отклонении крючковидных отростков определяется деформация, напоминающая форму кастрюли (симптом кастрюли). Щель в суставе Лушки суживается, т. е. имеет место артроз унковертебральных сочленений. Склерозирующий артроз проявляется увеличением полулунного отростка, который становится круглым, массивным, структура его уплотняется, костные разрастания в отростке отсутствуют. На костных РГМ выявляется сужение межпозвонковых отверстий за счет пролабирования в них задних унковертебральных разрастаний.

В развитии неврологической симптоматики при шейном остеохондрозе важную роль играет дисфункция глубоких мышц шеи. Нами разработан рентгенофункциональный способ выявления дисфункции глубоких мышц на уровне ШОП (патент на изобретение ВУ № 18206 С1), позволяющий осуществлять раннюю диагностику функциональных нарушений в глубоких мышцах медиального и латеральных трактов ШОП путем сопоставления амплитуд движения рядом расположенных позвонков при сгибании (разгибании) относительно ортостатического положения.

Поставленная задача достигается благодаря тому, что на РГМ, полученных в ортостатическом положении, а также в положении максимального сгибания и разгибания головы, амплитуда движения тел позвонков определяется как разность углов в сагиттальной проекции относительно вертикальной оси путем проведения по задней поверхности тела позвонка вертикальной линии. Эта линия выстраивается автоматически при наличии соответствующего пакета программ. После определения амплитуды движения тел позвонков (вперед-назад) устанавливается разность амплитуд рядом расположенных позвонков. Если эта разность при наклоне вперед не превышает $\pm 2^\circ$, это свидетельствует о движении данного сегмента блоком. При наклоне назад разность между амплитудами движения позвонков для констатации движения блоком должна быть в пределах $\pm 1^\circ$. Если разность амплитуды движения вышележащего позвонка относительно нижележащего

не превышает $\pm 2^\circ$, можно утверждать, что сегмент из данных позвонков движется блоком как при наклоне назад, так и при наклоне вперед. Анализ сравнения амплитуд движения рядом расположенных позвонков при наклонах головы вперед или назад позволяет предположить, что данный метод может быть применен для выявления нарушения функций мышечного аппарата ШОП, а также для диагностики функциональных нарушений глубоких мышц ШОП. Метод прост в исполнении (врач-рентгенолог проводит линию по задней боковой поверхности тел позвонков), объективен, поскольку обработка полученных результатов может проводиться автоматически при наличии соответствующего пакета программ.

Кроме рентгенологического метода применяют и другие способы лучевой визуализации ШОП, а именно РКТ, МРТ. При этом следует отметить, что диагностическая эффективность последних разная.

РКТ, обладая большой разрешающей способностью, играет ведущую роль в установлении степени выраженности и характера стеноза позвоночного канала, в обнаружении обызвествлений в продольных и желтых связках, в диагностике ДДИ костных структур в суставах и полуплунных отростках. С помощью РКТ хорошо определяются характер и распространенность поражения ШОП, плотность различных структур в единицах Хаунсфилда.

Для того чтобы объективно оценить ДДИ в позвоночно-двигательных сегментах, нами применялась РККТ, а разработанные показатели минерализации позволяли уточнить стадию остеохондроза. Рентгеноденситометрическая характеристика костных структур ПДС оценивалась нами в единицах Хаунсфилда (НУ) по шкале Хаунсфилда, в единицах объемной плотности ($\text{мг}/\text{см}^3$ эквивалента костного минерала гидроксиапатита кальция) по *T*- и *Z*-критерию. От степени и характера минерализации позвонков зависит состояние трабекулярной и кортикальной костной ткани. Кость приспособляется к новым статическим нагрузкам. Причем минеральная плотность кости возрастает от уровня позвонка С3 к уровню позвонка С4, составляя соответственно 284,5 и 300,1 $\text{мг}/\text{см}^3$, а от уровня позвонка С5 до уровня позвонка С7 отмечается снижение показателей до 225,7 $\text{мг}/\text{см}^3$, что свидетельствует о патологической биомеханике ШОП.

В диагностике ДДИ позвоночника применяется и МРТ. Достоинствами ее являются: неинвазивность, визуализация содержимого дурального мешка, корешковых каналов, паравerteбральных областей, высокая чувствительность к патологическим изменениям в структуре мягких тканей, в том числе возможность визуализации сосудистого русла всех калибров и др.

Выводы

1. У лиц, страдающих ОШОП, под действием продолжительных нагрузок изменяются статика и биомеханика позвоночника, а также первоначальная форма элементов ПДС, что приводит к изменению их внутренней архитектоники. При этом кость постепенно приспособляется к новым статическим требованиям, ее внутренняя структура изменяется, костная ткань перестраивается, появляются участки остеопороза и остеосклероза.

2. Биомеханическое нарушение при шейном остеохондрозе проявляется большим или меньшим ограничением подвижности позвоночника, что связано с защитной реакцией на боль при поражении одного или нескольких сегментов. Выключение одного или нескольких сегментов из общего объема движений позвоночника приводит к компенсаторной гипермобильности в соседних сегментах, что является адаптацией позвоночника к новым условиям статики и динамики.

3. Основными критериями, характеризующими хондроз (дискоз) позвоночно-двигательных сегментов, являются нестабильность в сегменте, выпрямление физиологического лордоза, торсия позвонков и другие симптомы, определяемые при функциональной спондилографии.

4. У лиц с болевыми и мышечно-тоническими синдромами ДДИ в сегментах С4–С6 выявляются у 90,2 \pm 2,75 %, нарушение физиологического лордоза – у 87,9 \pm 2,9, уменьшение амплитуды и гармонизации движения – у 93,4 \pm 2,2 %.

5. Основными морфологическими признаками ОШОП являются: склероз замыкательных пластин в ПДС (70,5 \pm 4,1 %), субхондральный склероз (67,2 \pm 4,2 %), снижение высоты межпозвонкового диска (68,8 \pm 4,2 %), краевые разрастания (остеофиты) тел позвонков (64,7 \pm 4,3 %), скошенность

углов тел позвонков ($50,0 \pm 4,5$ %), клиновидная деформация тел позвонков ($24,6 \pm 3,9$ %), деформация крючковидных отростков ($22,9 \pm 3,8$ %).

6. У пациентов с ОШОП значения минеральной плотности кости возрастают от уровня позвонка С3 к уровню позвонков С4 и С5, а от уровня позвонка С5 и дистальнее отмечается снижение этих показателей в порядке убывания, достигая минимальных значений на уровне позвонка С7, что может свидетельствовать об изменении точек и направления воздействия нагрузки на элементы ПДС в связи со смещением центра нагрузки и выпрямлением шейного лордоза.

7. Функциональная спондилография расширяет и обогащает возможности рентгенодиагностики. С ее помощью можно изучить состояние межпозвонковых дисков и позвоночно-двигательных сегментов, установить нарушение их функций, распознать ранние стадии дегенеративно-дистрофических изменений при шейном остеохондрозе.

8. Применение комплексной лучевой визуализации ШОП позволит диагностировать ДДИ у 100 % больных остеохондрозом и даст возможность установить не только причину его неврологических проявлений, но и механизм развития.

Список использованных источников

1. Абельская, И. С. Актуальные аспекты рентгенологической диагностики остеохондроза шейного отдела позвоночника на этапах медицинской реабилитации / И. С. Абельская, А. Н. Михайлов // Вестн. рентгенологии и радиологии. – 2006. – № 6. – С. 22–28.
2. Абельская, И. С. Комплексная лучевая диагностика шейного остеохондроза / И. С. Абельская, А. Н. Михайлов // Невский радиологический форум «Новые горизонты», 7–10 апр. 2007 г., Санкт-Петербург: сб. науч. тр. – СПб., 2007. – С. 67–68.
3. Абельская, И. С. Шейный остеохондроз: диагностика и медицинская реабилитация / И. С. Абельская, О. А. Михайлов, В. Б. Смычек; под ред. А. Н. Михайлова. – Минск: БелМАПО, 2007. – 347 с.
4. Абельская, И. С. Менеджмент качества лучевой диагностики ОШОП / И. С. Абельская. – Минск: БелМАПО, 2016. – 175 с.
5. Михайлов, А. Н. Рентгенодиагностика заболеваний костно-суставной системы / А. Н. Михайлов. – Минск: БелМАПО, 2011. – 299 с.
6. Михайлов, А. Н. Лучевая визуализация дегенеративно-дистрофических заболеваний позвоночника и суставов / А. Н. Михайлов. – Минск: БелМАПО, 2015. – 177 с.
7. Михайлов, А. Н. Корреляционные связи между плотностью костной ткани и кровоснабжения позвоночных сегментов при остеохондрозе шейного отдела позвоночника / А. Н. Михайлов, Т. Н. Лукьяненко // Невский радиологический форум, 2013: сб. науч. работ, 5–7 апр. 2013 г. / Санкт-Петербург: радиол. о-во. – СПб., 2013. – С. 141.
8. Михайлов, А. Н. Количественная рентгеновская компьютерная томография шейного остеохондроза / А. Н. Михайлов, И. С. Абельская, Т. Н. Лукьяненко // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2015. – № 2. – С. 23–29.
9. Михайлов, А. Н. Современные проблемы лучевой диагностики шейного остеохондроза / А. Н. Михайлов, И. С. Абельская, Т. Н. Лукьяненко // Мед. новости. – 2015. – № 7. – С. 4–11.
10. Продан, А. И. Дегенеративные заболевания позвоночника / А. И. Продан, В. А. Родяно, Н. А. Корж. – Харьков: Контреет, 2007. – 272 с.
11. Михайлов, А. Н. Минеральная плотность позвоночника при его остеохондрозе / А. Н. Михайлов, Т. Н. Лукьяненко // Материалы VIII Всерос. нац. конгр. лучевых диагностов и терапевтов «Радиология-2014», Москва, 28–30 мая 2014 г. – М., 2014. – С. 20–21.
12. Михайлов, А. Н. Рентгеноденситометрическая характеристика костных структур позвоночных сегментов при шейном остеохондрозе / А. Н. Михайлов, Т. Н. Лукьяненко // Мед. новости. – 2014. – № 10. – С. 47–50.
13. Михайлов, А. Н. Роль количественной компьютерной томографии в оценке архитектоники костных структур у пациентов с остеохондрозом шейного отдела позвоночника / А. Н. Михайлов, И. С. Абельская, Т. Н. Лукьяненко // Мед.-биол. проблемы жизнедеятельности. – 2015. – № 1. – С. 104–111.
14. Михайлов, А. Н. Объективные критерии оценки макро- и микроструктурных изменений позвоночно-двигательных сегментов у пациентов с шейным остеохондрозом / А. Н. Михайлов, Т. Н. Лукьяненко // Мед. новости. – 2016. – № 5. – С. 53–57.
15. Михайлов, А. Н. Эффективность рентгеновской количественной компьютерной томографии в определении минеральной плотности позвонков при шейном остеохондрозе / А. Н. Михайлов, Т. Н. Лукьяненко // Здравоохранение. – 2016. – № 5. – С. 57–63.
16. Михайлов, А. Н. Способ установки корреляционных связей между плотностью костных структур и стадиями остеохондроза / А. Н. Михайлов, Т. Н. Лукьяненко // Невский радиологический форум, 2013: сб. науч. работ, 5–7 апр. 2013 г., Санкт-Петербург: радиол. о-во. – СПб., 2013. – С. 141.

References

1. Abel'skaia I. S., Mikhailov A. N. Actual aspects of rentgenologic diagnosis of osteochondrosis of the cervical spine at the stages of medical rehabilitation. *Vestnik rentgenologii i radiologii* [Herald of Rentgenology and Radiology], 2006, no. 6, pp. 22–28. (in Russian).

2. Abel'skaia I. S., Mikhailov A. N. Full-scale radiodiagnosis of cervical osteochondrosis. *Nevskii radiologicheskii forum «Novye gorizonty»* [Nevsky radiological forum «New Horizons»]. St. Petersburg, 2007, pp. 67–68. (in Russian).
3. Abel'skaia I. S., Mikhailov O. A., Smychek V. B. *Cervical osteochondrosis: diagnosis and medical rehabilitation*, in Mikhailov A. N. (ed.). Minsk, BelMAPO, 2007. 347 p. (in Russian).
4. Abel'skaia I. S. *Quality management of radiation diagnosis of cervical spine osteochondrosis*. Minsk, BelMAPO, 2016. 175 p. (in Russian).
5. Mikhailov A. N. *X-ray diagnosis of diseases of the osteoarticular system*. Minsk, BelMAPO, 2011. 299 p. (in Russian).
6. Mikhailov A. N. *Radial visualization of degenerative-dystrophic diseases of the spine and joints*. Minsk, BelMAPO, 2015. 177 p. (in Russian).
7. Mikhailov A. N., Luk'ianenko T. N. Correlations between bone tissue density and blood supply of vertebral segments with osteochondrosis of the cervical spine. *Nevskii radiologicheskii forum, 2013: sbornik nauchnykh rabot* [Nevsky Radiological Forum, 2013: collection of scientific works]. St. Petersburg, 2013, p. 141. (in Russian).
8. Mikhailov A. N., Abel'skaia I. S., Luk'ianenko T. N. Quantitative X-ray computed tomography of cervical osteochondrosis. *Vesti Natsyianal'nai akademii navuk Belarusi. Seryia medytsynskikh navuk* = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series, 2015, no. 2, pp. 23–29. (in Russian).
9. Mikhailov A. N., Abel'skaia I. S., Luk'ianenko T. N. Contemporary problems of radiation diagnosis of cervical osteochondrosis. *Meditsinskie novosti* [Medical News], 2015, no. 7, pp. 4–11.
10. Prodan A. I., Rodianko V. A., Korzh N. A. *Degenerative spine disorders*. Kharkov, Kontreet Publ., 2007. (in Russian).
11. Mikhailov A. N., Luk'ianenko T. N. Spine mineral density with its osteochondrosis. *Materialy VIII Vserossiiskogo natsional'nogo kongressa luchevykh diagnostov i terapevtov «Radiologiya-2014»* [Materials of the All-Russian National Congress of Ray Diagnosticians and Physicians «Radiology-2014»]. Moscow, 2014, pp. 20–21. (in Russian).
12. Mikhailov A. N., Luk'ianenko T. N. X-ray densitometry of bone structures of vertebral segments with cervical osteochondrosis. *Meditsinskie novosti* [Medical News], 2014, no. 10, pp. 47–50. (in Russian).
13. Mikhailov A. N., Abel'skaia I. S., Luk'ianenko T. N. The role of quantitative computed tomography in assessing the architectonics of bone structures in patients with osteochondrosis of the cervical spine. *Mediko-biologicheskie problemy zhiznedeyatel'nosti* [Medico-biological Problems of Life Activity], 2015, no. 1, pp. 104–111. (in Russian).
14. Mikhailov A. N., Luk'ianenko T. N. Objective criteria for assessing the macro- and microstructural changes in the spinal-motor segments in patients with cervical osteochondrosis. *Meditsinskie novosti* [Medical News], 2016, no. 5, pp. 53–57. (in Russian).
15. Mikhailov A. N., Luk'ianenko T. N. Efficiency of X-ray quantitative computed tomography in assessing the mineral density of vertebrae in cervical osteochondrosis. *Zdravooхранenie* [Healthcare], 2016, no. 5, pp. 57–63. (in Russian).
16. Mikhailov A. N., Luk'yanenko T. N. The method of establishing correlation links between the density of bone structures and the stages of osteochondrosis. *Nevskii radiologicheskii forum, 2013: sbornik nauchnykh rabot* [Nevsky Radiological Forum, 2013: collection of scientific works], The St. Petersburg Radiological Society. St. Petersburg, 2013, p. 141. (in Russian).

Информация об авторах

Михайлов Анатолий Николаевич – академик, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: pdpsecurity503@mapo.by.

Абельская Ирина Степановна – д-р мед. наук, профессор, Главный врач Республиканского клинического медицинского центра Управления делами Президента Республики Беларусь (ул. Красноармейская, 10, 220600, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: rcmc.udp.rb@tut.by.

Малевич Эльвира Евгеньевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий отделением. Республиканский клинический медицинский центр Управления делами Президента Республики Беларусь (ул. Красноармейская, 10, 220600, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: emalevich@gmail.com.

Лукьяненко Татьяна Николаевна – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: visa27_08@mail.ru.

Жарнова Валентина Васильевна – канд. мед. наук, доцент. Гродненский государственный университет им. Я. Купалы (ул. Ожешко, 22, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: a.zharnow@grsu.by.

Information about the authors

Anatoly N. Mikhailov – Academician, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: pdpsecurity503@mapo.by.

Irina S. Abelskaya – D. Sc. (Med.), Professor, Chief doctor of the Republican Clinical Medical Center of the Administration of the President of the Republic of Belarus (10, Krasnoarmeyskaya Str., 220600, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rcmc.udp.rb@tut.by.

Elvira E. Malevich – D. Sc. (Med.), Professor, Head of Department. Republican Clinical Medical Center of the Administration of the President of the Republic of Belarus (10, Krasnoarmeyskaya Str., 220600, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: emalevich@gmail.com.

Tatyana N. Luk'yanenko – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: visa27_08@mail.ru.

Valentina V. Zharnova – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Yanka Kupala State University of Grodno (22, Ozheshko Str., 230023, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: a.zharnow@grsu.by.

Н. А. Юзефович, Т. М. Студеникина, И. А. Мельников

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

ОСОБЕННОСТИ ВОЗРАСТНЫХ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭЛАСТИЧЕСКИХ МЕМБРАН СРЕДНЕЙ ОБОЛОЧКИ АОРТЫ

Аннотация. Проведен морфометрический анализ эластических мембран средней оболочки стенки брюшного отдела аорты человека. Изучены такие параметры, как среднее количество мембран, толщина и ширина промежутков между ними, приведены гистограммы их распределения по толщине эластических мембран и ширине промежутков между соседними мембранами, выявлены основные закономерности и характер изменения этих показателей у мужчин и женщин в возрасте с 1 года до 70 лет. Установлены основные этапы изменения структурных характеристик эластических мембран. Определена длительность периода завершения процессов формирования и роста эластических структур, периода стабилизации и периода старения эластических компонентов сосудистой стенки. Установлены отличия в длительности этих периодов у мужчин и женщин. Применение морфометрических методов позволило с большей точностью охарактеризовать структурные изменения эластических мембран средней оболочки брюшного отдела аорты, выявить сроки появления этих изменений, определить отличия по срокам у мужчин и женщин.

Ключевые слова: эластические мембраны, аорта, морфометрический анализ

Для цитирования: Юзефович, Н. А. Особенности возрастных структурных изменений эластических мембран средней оболочки аорты / Н. А. Юзефович, Т. М. Студеникина, И. А. Мельников // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 3. – С. 45–55.

N. A. Yuzefovich, T. M. Studenikina, I. A. Melnikov

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

AGE FEATURES OF THE STRUCTURAL CHANGES IN ELASTIC MEMBRANES OF THE ABDOMINAL AORTA

Abstract. The morphometric analysis of elastic membranes of the human abdominal aorta was made; such parameters as average values of the number of membranes, the thickness and width of intervals between the adjacent membranes in different age groups of males and females were studied. The histograms of the distribution of the thickness of the elastic membranes and the width of intervals between the adjacent membranes in different-age groups of males and females were analyzed. The main regularities and the nature of changes in the indicators of the number, the thickness of membranes and the width of intervals between the adjacent membranes in norm in patients at the age from 1 to 70 years were studied. The main stages of change in the structural characteristics of the elastic membranes were established. The time of completion of the processes of formation and growth of elastic membranes, the period of stabilization, and the period of aging of the elastic components of a vessel wall were determined. Differences in the duration of these periods for males and females were revealed. The morphometric methods allow one to establish structural changes in the elastic membranes of the human abdominal aorta with a higher accuracy, to reveal the time of appearance of these changes, to determine differences in the time of these periods for males and females.

Keywords: elastic membranes, aorta, morphometric analysis

For citation: Yuzefovich N. A., Studenikina T. M., Melnikov I. A. Age features of the structural changes in elastic membranes of the abdominal aorta. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 45–55 (in Russian).

Введение. Средняя оболочка аорты является главной рабочей структурой сосудистой стенки. Ее механические свойства обусловлены в значительной мере особенностями строения эластических мембран, которые определяют морфологическую и функциональную целостность сосудистой стенки [1–4]. Эволютивные и инволютивные изменения эластического каркаса аорты могут не только определять ход физиологического старения сосудистой стенки, но и участвовать в развитии дегенеративных патологических процессов [5–8]. Причины этих изменений остаются во многом не ясными. Встречающиеся в литературе данные о количестве мембран, их толщине и ширине промежутков между ними в средней оболочке брюшного отдела аорты человека

немногочисленны, не систематизированы, не охватывают все возрастные периоды постнатального онтогенеза. Также нет данных по системному изучению этих показателей у мужчин и женщин разных возрастных групп.

Цель исследования – провести морфометрический анализ эластических мембран средней оболочки аорты для выявления закономерностей их изменения с возрастом у мужчин и женщин.

Материалы и методика исследования. Работа выполнена на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии УО «Белорусский государственный медицинский университет». Материалом для исследования послужили гистологические препараты аутопсийного материала стенки брюшного отдела аорты 72 человек мужского и женского пола (30 женщин и 42 мужчин) в возрасте от 1 года до 70 лет, без системных заболеваний соединительной ткани, без установленной в анамнезе патологии сердечно-сосудистой системы, умерших от причин, не связанных с патологией аорты.

Материал фиксировали в 10 %-ном растворе нейтрального формалина в течение суток и заливали в парафин обычным способом. Готовые срезы толщиной 3–4 мкм окрашивали по Вейгерту.

Поскольку, по литературным данным [1, 2], в возрастном периоде от 40 до 60 лет морфометрические параметры стенки аорты характеризуются большим разбросом, данный возрастной период дополнительно был разбит нами на временные отрезки по 5 лет (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. **Количественный состав исследуемого материала**

Table 1. **Quantitative composition of the studied material**

Возраст, лет	Пол		К-во случаев в группе	К-во сканирующих линий на 1 случай	К-во сканирующих линий в возрастной группе
	Мужчины	Женщины			
1–10	3	9	12	50	600
11–20	5	3	8	50	400
21–30	7	3	10	50	500
31–40	10	3	13	50	650
41–45	3	2	5	50	250
46–50	3	3	6	50	300
51–55	2	2	4	50	200
56–60	3	2	5	50	250
61–70	6	3	9	50	450
Всего	42	30	72	–	3600

С помощью программы ImageJ определяли количество эластических мембран, их толщину и ширину промежутков между соседними мембранами. Для этого был разработан алгоритм для полуавтоматического анализа изображения поперечного среза стенки аорты, реализованный в виде макроса или плагина (plugin) для программы ImageJ.

В каждом случае исследование проводили по 50 сканирующим линиям. Учитывая, что распределение количественных параметров в большинстве выборок отличалось от нормального, для описательной статистики и выявления достоверности различий использовали непараметрические методы статистической обработки данных [6]. Полученные результаты обрабатывали в программе STATISTICA 10 и представляли в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха между 25-м и 75-м перцентилями. Достоверность различий оценивали по коэффициенту Манна–Уитни. Для наглядного отображения распределения выборки данные представляли в виде гистограмм распределения мембран по толщине и межмембранных промежутков по ширине, достоверность различий между ними оценивали по коэффициенту Колмогорова–Смирнова. Поскольку количество мембран – это счетный, а не мерный признак, его динамика отображена нами на точечном графике.

Результаты и их обсуждение. На светомикроскопическом уровне эластические мембраны средней оболочки аорты в возрасте до 30 лет хорошо выражены, толстые, имеют извилистый ход вдоль всей стенки аорты, прослеживаются на значительном протяжении, количество разрывов в мембранах практически не определяется, соседние мембраны расположены друг от друга на небольшом расстоянии (рис. 1, а).

В возрасте от 30 до 50 лет мембраны также хорошо выражены, сохраняется их толщина, хотя извилистость может уменьшаться на значительном протяжении. Иногда наблюдаются участки небольшой длины с видимым расслоением эластических мембран и увеличение ширины межмембранных промежутков. Участки с хорошо выраженными толстыми извилистыми эластическими мембранами и небольшими промежутками между соседними мембранами чередуются с участками, где мембраны тонкие, имеют прямой ход, содержат значительное количество разрывов, из-за которых образуются широкие межмембранные промежутки (рис. 1, *b*).

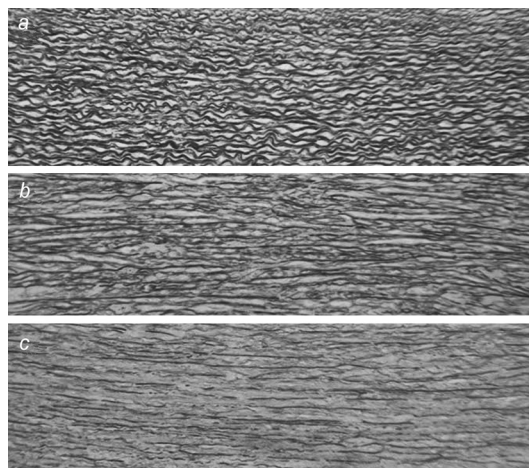


Рис. 1. Фрагмент средней оболочки аорты у пациентов 9 (*a*), 48 (*b*) и 64 (*c*) лет. Окраска по Вейгерту, $\times 10$

Fig. 1. Fragment of the human abdominal aorta: *a* – 9 years, *b* – 48 years, *c* – 64 years. Weygert coloring, $\times 10$

В возрасте от 51 до 70 лет эластические мембраны тонкие, не имеют извилистости, выглядят практически гладкими. Они не прослеживаются на большом протяжении, имеют много разрывов, промежутки между соседними мембранами увеличены (рис. 1, *c*).

Если в крайних возрастных группах различия в качественных характеристиках мембран и межмембранных промежутков при световой микроскопии определяются довольно легко, то средний возрастной период характеризуется большим разнообразием этих характеристик. На одном поперечном срезе аорты в средней оболочке выявляются как зоны с более толстыми эластическими мембранами, расположенными близко друг к другу, так и участки, в которых мембраны тонкие, прерывистые, а расстояния между соседними мембранами увеличены. Такое качественное разнообразие признаков не всегда позволяет составить точное представление о характере, степени изменений эластического каркаса, возрасте, в котором эти изменения становятся закономерными. Поэтому для получения объективных данных, характеризующих возрастные изменения, нами применялись морфометрические методы.

Анализ морфометрических показателей выявил, что у человека от рождения до 30 лет происходит увеличение количества эластических мембран в стенке аорты, а с 30 до 45 лет интенсивность этого процесса уменьшается (табл. 2).

Таблица 2. Среднегрупповые показатели количества мембран у мужчин и женщин, Me (25%–75%)

Table 2. Middle-group indices of the number of membranes of males and females, Me (25%–75%)

Возраст, лет	Среднее к-во мембран	
	Мужчины	Женщины
1–10	49,18 (44,08–55,02)	41,66 (34,30–47,84)
11–20	59,18 (54,84–60,60)	53,46 (52,18–57,38)
21–30	67,16 (65,36–77,60)	61,38 (58,46–69,38)
31–40	71,73 (56,06–77,74)	64,00 (60,82–71,20)
41–45	71,0 (67,22–80,08)	66,11 (56,56–75,66)
46–50	58,5 (47,86–76,44)	61,14 (59,98–63,2)
51–55	55,98 (48,94–63,02)	62,07 (61,9–62,24)
56–60	63,36 (51,22–74,62)	68,41 (68,42–72,0)
61–70	51,14 (46,68–67,28)	44,34 (42,76–56,06)

У мужчин после 45 лет отмечается тенденция к снижению этого показателя с небольшой стабилизацией его значения в возрасте 56–60 лет. У женщин и после 45 лет этот показатель остается стабильным, а его снижение отмечается только после 60 лет. На протяжении всех возрастных периодов у мужчин наблюдается большой размах значений количества мембран, в то время как у женщин этот показатель изменяется в небольшом диапазоне и имеет более стабильные значе-

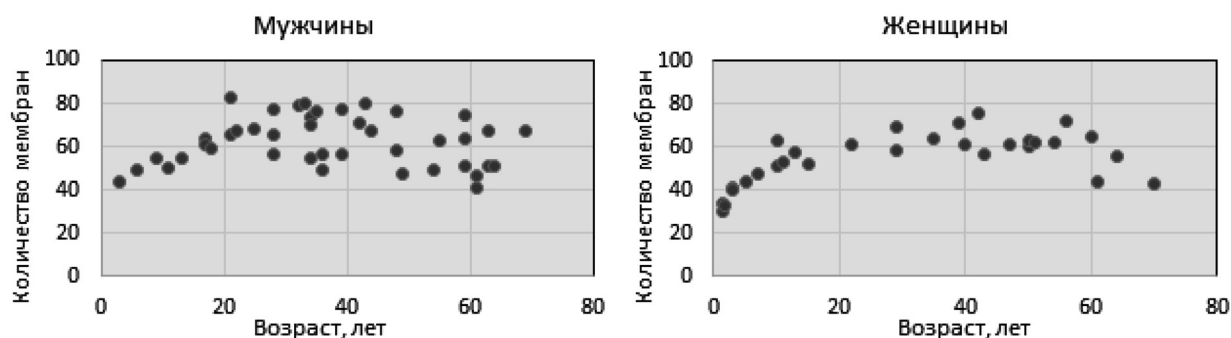


Рис. 2. Средние значения количества мембран в средней оболочке аорты у мужчин и женщин

Fig. 2. Average value of the number of membranes in the abdominal aorta of males and females

ния (рис. 2). Вместе с тем никаких достоверных различий в количестве эластических мембран между соседними возрастными группами по критерию Манна–Уитни ни в мужской, ни в женской группе не отмечается.

Изменение другого показателя – толщины эластических мембран – носит волнообразный характер (табл. 3). Начиная с периода рождения толщина мембран имеет тенденцию к уменьшению, что, вероятно, связано с процессами становления эластических структур сосудистой стенки и увеличением диаметра аорты. У мужчин этот период длится до 30 лет, после чего отмечается период стабилизации и небольшого роста толщины мембран. После 45 лет происходит постепенное уменьшение их толщины. У женщин толщина мембран уменьшается к 20 годам, после чего отмечается увеличение их толщины и сохранение стабильности этого показателя вплоть до 55 лет. Максимальный разброс значений толщины мембран у мужчин приходится на первые годы жизни, у женщин этот показатель имеет более широкий диапазон значений в возрасте 40–50 лет.

Таблица 3. Среднегрупповые показатели толщины мембран у мужчин и женщин, мкм (Me (25%–75%))

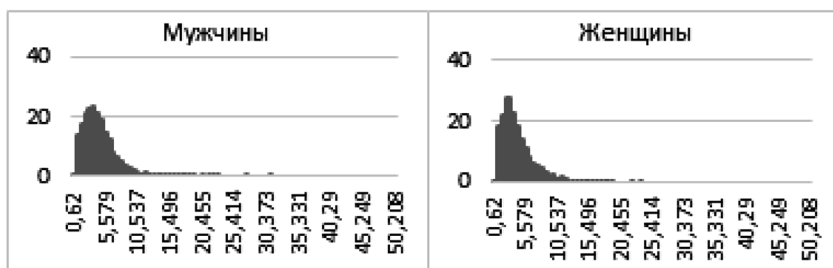
Table 3. Middle-group indices of the thickness of the membranes of males and females, mcm (Me (25%–75%))

Возраст, лет	Средняя толщина мембран	
	Мужчины	Женщины
1–10	3,712 (3,217–4,412)	3,681 (3,663–4,075)
11–20	3,562 (3,397–3,757)	2,817 (2,738–2,981)
21–30	3,485 (3,419–3,507)	3,320 (3,097–3,586)
31–40	3,678 (3,458–3,784)	3,647 (3,615–3,649)
41–45	3,672 (3,451–3,995)	3,346 (3,039–3,653)
46–50	3,253 (3,118–3,537)	3,503 (2,795–4,150)
51–55	3,113 (2,807–3,418)	3,923 (3,896–3,950)
56–60	2,949 (2,692–3,284)	3,459 (3,177–3,741)
61–70	2,744 (2,457–3,032)	2,985 (2,765–3,086)

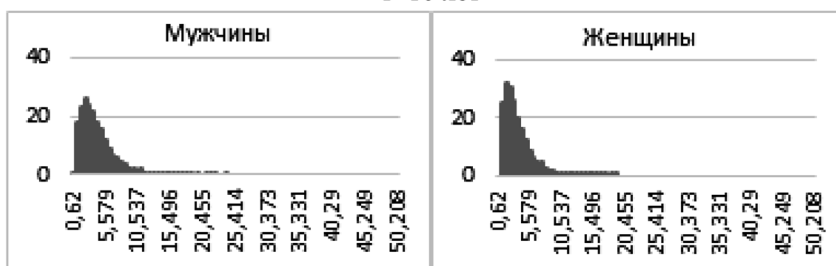
Как видно из анализа медиан, достоверных различий между соседними возрастными группами не выявляется. При анализе гистограмм распределения мембран по толщине получены дополнительные сведения (рис. 3).

У мужчин в возрастных группах от 1 до 45 лет гистограммы не имели достоверных различий (табл. 4). Начиная с возрастного периода 45–50 лет в мужской группе наблюдались достоверное сужение гистограммы и рост ее вершины, прогрессирующие в более старших возрастных группах, что свидетельствует об истончении эластических мембран у мужчин после 45 лет. Эта тенденция сохранялась до окончания срока наблюдения.

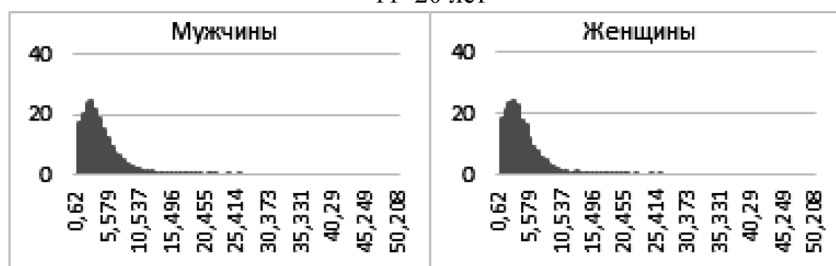
У женщин отмечались достоверные колебания этого признака в молодом возрасте (табл. 4): истончение в группе 11–20 лет по сравнению с группой 1–10 лет и вновь утолщение в возрасте после 21 года, что, очевидно, связано со становлением гормонального фона и его влиянием



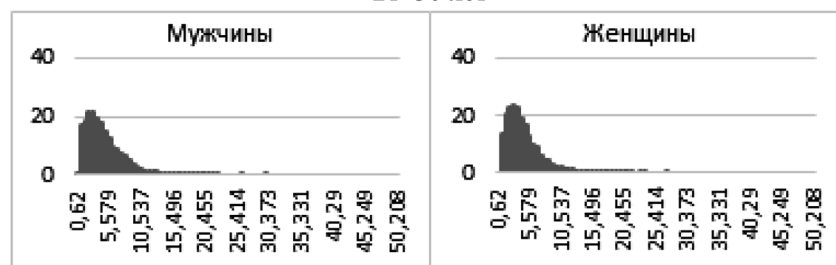
1–10 лет



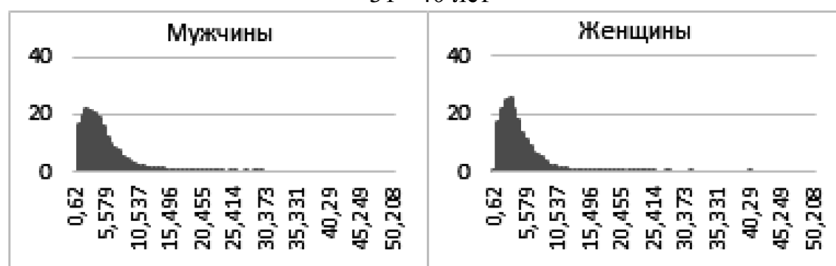
11–20 лет



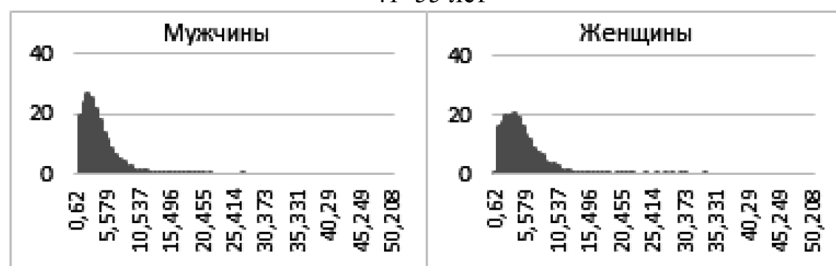
21–30 лет



31–40 лет



41–55 лет



46–50 лет

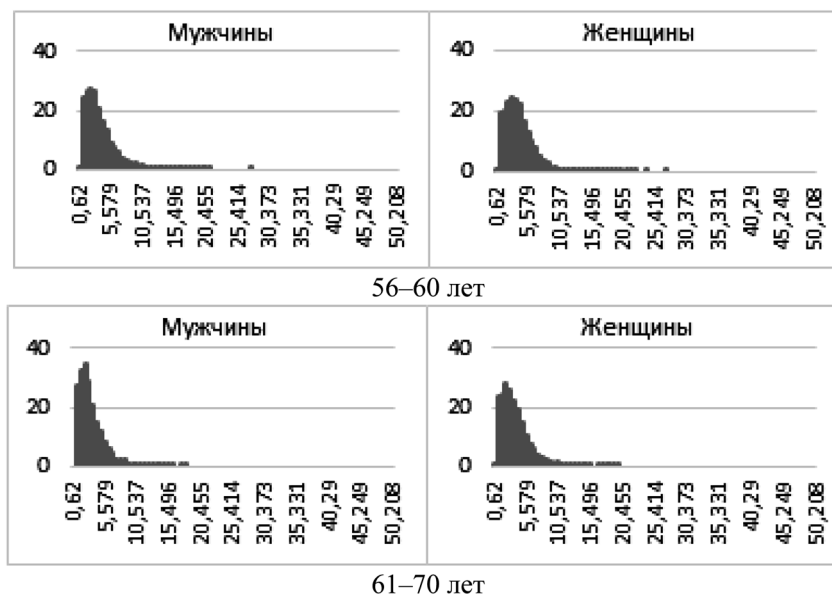


Рис. 3. Гистограммы распределения эластических мембран по толщине. По оси абсцисс – значения толщины, мкм; по оси ординат – частота встречаемости признака, %

Fig. 3. Histograms of the thickness distribution of elastic membranes. The axis of abscissa is the thickness, mcm; the axis of ordinates is the frequency of occurrence of a sign, %

Таблица 4. Достоверность различий гистограмм распределения эластических мембран по толщине
Table 4. Reliability of the differences in the histograms of the thickness distribution of elastic membranes

Сравниваемые возрастные группы, лет		Значения p для коэффициента Колмогорова–Смирнова	
		Мужчины	Женщины
1–10	11–20	>0,05	0,003
11–20	21–30	>0,05	0,0035
21–30	31–40	>0,05	>0,05
31–40	41–45	>0,05	>0,05
41–45	46–50	0,043	>0,05
46–50	51–55	0,002	>0,05
51–55	56–60	0,0017	0,04
56–60	60–70	0,007	0,0069

на стенку аорты в пубертатном периоде. Начиная с 21 года и до 55 лет значения этого показателя стабильны. Лишь после 55 лет отмечались достоверное сужение гистограммы и рост ее вершины, что говорит об истончении мембран до окончания периода наблюдения. Таким образом, анализ толщины эластических мембран показал, что у мужчин процессы возрастных изменений наступают раньше, чем у женщин.

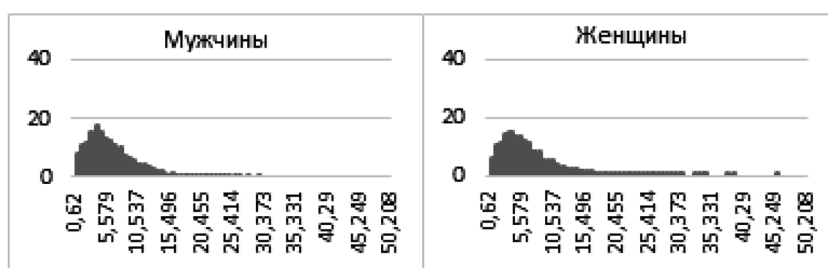
Анализ ширины межмембранных промежутков показал, что динамика данного параметра (табл. 5) носит колебательный характер, тем не менее с рождения до 60 лет тенденция к увеличению межмембранных промежутков отмечается и у мужчин, и у женщин. После 60 лет наблюдается их уменьшение. Более широкий размах значений этого показателя отмечается у женщин в возрасте 51–55 лет, у мужчин – в возрасте 46–50 лет. Но достоверных различий в ширине межмембранных промежутков между соседними возрастными группами по критерию Манна–Уитни ни в мужской, ни в женской группе не выявлено.

При анализе гистограмм распределения межмембранных промежутков по ширине (рис. 4) у мужчин до 50 лет, у женщин до 55 лет отмечаются достоверные различия между отдельными возрастными группами (табл. 6). Этот показатель, очевидно, является наиболее нестабильным по той причине, что отражает активность синтеза экстрацеллюлярного матрикса и подвержен максимальным индивидуальным колебаниям.

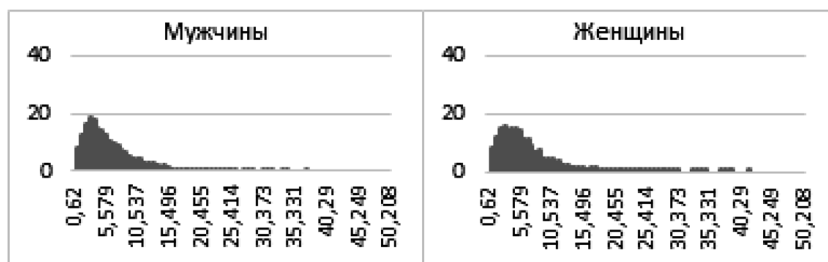
Таблица 5. Среднегрупповые показатели ширины межмембранных промежутков у мужчин и женщин, мкм (Me (25%–75%))

Table 5. Middle-group indices of the thickness of the intervals between adjacent membranes of males and females, mcm (Me (25%–75%))

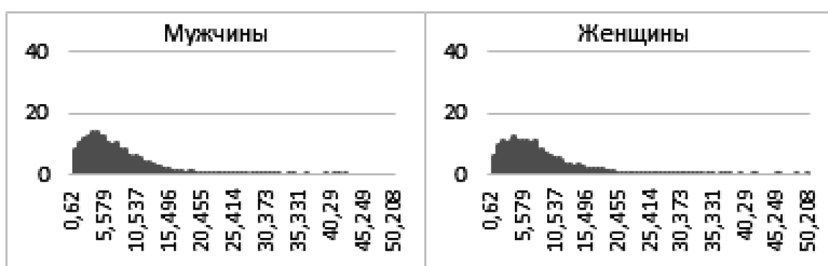
Возраст, лет	Средняя ширина межмембранных промежутков	
	Мужчины	Женщины
1–10	4,731 (4,684–5,966)	5,626 (5,217–5,828)
11–20	5,975 (5,844–6,307)	5,634 (4,846–5,636)
21–30	5,580 (4,585–6,586)	6,847 (5,884–7,339)
31–40	6,473 (6,097–6,863)	6,844 (5,909–7,349)
41–45	6,364 (5,510–6,840)	6,643 (6,554–6,731)
46–50	6,991 (6,009–8,153)	7,130 (6,929–7,131)
51–55	8,028 (7,703–8,352)	7,809 (6,521–9,096)
56–60	7,176 (6,558–7,937)	8,268 (7,894–8,641)
61–70	6,866 (6,247–7,740)	6,218 (6,058–7,277)



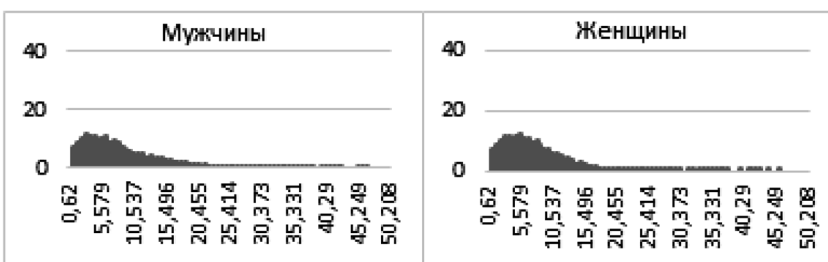
1–10 лет



11–20 лет



21–30 лет



31–40 лет

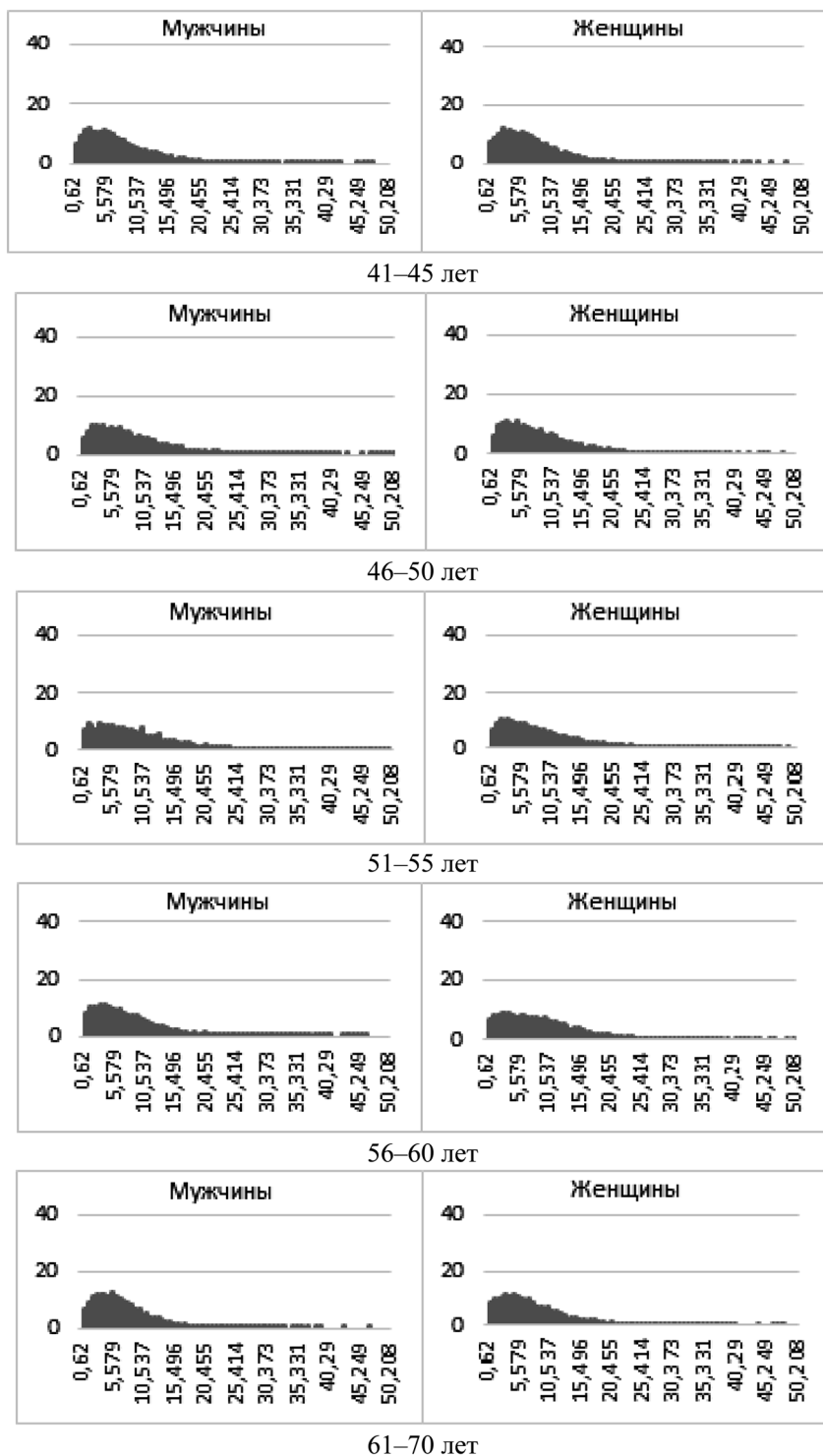


Рис. 4. Гистограммы распределения межмембранных промежутков по ширине. По оси абсцисс – значения ширины промежутков между мембранами, мкм; по оси ординат – частота встречаемости признака, %

Fig. 4. Histograms of the width distribution of adjacent membranes. The axis of abscissa is the width of the intervals between adjacent membranes, μm ; the axis of ordinates is the frequency of occurrence of a sign, %

При анализе гистограмм распределения межмембранных промежутков по ширине (рис. 4) и у мужчин, и у женщин в возрастных группах до 40 лет четкого направления изменений исследуемого признака не отмечалось. В возрасте с 41 года и до 60 лет наблюдалось уплощение вершин гистограмм и некоторое их смещение в сторону больших значений, что свидетельствует об увеличении ширины межмембранных промежутков и у мужчин, и у женщин, в том числе,

вероятно, и из-за увеличения количества разрывов эластических мембран (сканирующая линия «читает» разрыв в мембране как ее отсутствие). Уменьшение данного показателя в возрастной группе 61–70 лет и у мужчин, и у женщин, вероятно, свидетельствует о происходящих процессах деградации межклеточного вещества в ходе физиологического старения сосудистой стенки, из-за чего и отмечается уменьшение объема экстрацеллюлярного матрикса, а также о нарушении непрерывности эластических мембран.

Таблица 6. Достоверность различий гистограмм распределения межмембранных промежутков по ширине

Table 6. Reliability of the differences in the histograms of the width distribution of adjacent elastic membranes

Сравниваемые возрастные группы, лет		Значения <i>p</i> для коэффициента Колмогорова–Смирнова	
		Мужчины	Женщины
1–10	11–20	0,0001	0,0001
11–20	21–30	0,0001	0,0001
21–30	31–40	0,01	0,016
31–40	41–45	0,03	0,02
41–45	46–50	0,025	0,016
46–50	51–55	0,03	>0,05
51–55	56–60	>0,05	0,04
56–60	60–70	>0,05	0,038

На основании качественных и количественных признаков, описывающих состояние эластических структур средней оболочки аорты, нами выделено три основных возрастных периода изменений эластического каркаса: период завершения процессов формирования и роста эластических структур, период стабилизации и период старения эластических компонентов сосудистой стенки.

Для более четкого определения возрастных границ этих периодов данные тех групп, между которыми не существует достоверных различий, были объединены. На основании морфологических данных и коэффициента Колмогорова–Смирнова, данных критерия Манна–Уитни по объединенным группам (табл. 7) первый период длится от рождения до 30 лет и у мужчин, и у женщин.

Второй период у мужчин заканчивается к 45 годам, о чем свидетельствует достоверное отличие от предыдущей возрастной группы по критерию Манна–Уитни по всем измеряемым морфометрическим параметрам (табл. 7). У женщин период стабильности длится дольше, до 55 лет, что подтверждается морфологическими изменениями, коэффициентом Колмогорова–Смирнова (табл. 7).

Таблица 7. Критерий Манна–Уитни для сравнения трех возрастных групп у мужчин и женщин, Me (25%–75%)

Table 7. Mann–Whitney criterion for three age groups of males and females, Me (25%–75%)

Признак	Возрастные группы у мужчин, лет		Уровень значимости (<i>p</i>)	Возрастные группы у женщин, лет		Уровень значимости (<i>p</i>)
	1–30	31–45		1–30	31–55	
К-во мембран	60,60 (54,84–67,16)	71,00 (56,64–77,74)	>0,05	51,44 (40,72–58,46)	62,07 (60,82–64,0)	0,002
Толщина мембран	3,487 (3,397–3,712)	3,672 (3,458–3,784)	>0,05	3,586 (2,981–3,874)	3,648 (3,503–3,896)	>0,05
Ширина межмембранных промежутков	5,844 (4,684–6,307)	6,382 (6,097–6,840)	>0,05	5,636 (5,217–6,253)	6,887 (6,554–7,131)	0,001
Признак	Возрастные группы у мужчин, лет		Уровень значимости (<i>p</i>)	Возрастные группы у женщин, лет		Уровень значимости (<i>p</i>)
	31–45	46–70		31–55	56–70	
К-во мембран	71,00 (56,64–77,74)	54,91 (48,94–67,28)	0,016	62,07 (60,82–64,0)	56,06 (44,34–64,82)	>0,05
Толщина мембран	3,672 (3,458–3,784)	2,991 (2,728–3,253)	0,0002	3,648 (3,503–3,896)	3,086 (2,985–3,177)	>0,05
Ширина межмембранных промежутков	6,382 (6,097–6,840)	7,281 (6,345–7,937)	0,037	6,887 (6,554–7,131)	7,277 (6,218–7,894)	>0,05

Выводы

1. Изучение эластических мембран средней оболочки аорты с помощью морфологических и морфометрических методов исследования позволило выявить закономерности возрастных изменений эластического каркаса аорты у мужчин и женщин и выделить три основных периода, касающихся изменений структурных характеристик эластических мембран: период завершения процессов формирования и роста эластических структур, период стабилизации и период старения эластических компонентов сосудистой стенки.

2. Период завершения процессов формирования и роста эластических структур характеризуется увеличением количества эластических мембран, уменьшением их толщины, постепенным увеличением ширины межмембранных промежутков. У мужчин и женщин этот период длится в среднем до 30 лет.

3. Период стабилизации эластических компонентов сосудистой стенки характеризуется стабильностью количества и толщины мембран, а также постепенным увеличением ширины межмембранных промежутков. Этот период у мужчин охватывает возраст с 30 до 45 лет, у женщин – с 30 до 55 лет.

4. Третий период – старения эластических компонентов сосудистой стенки – характеризуется тенденцией к уменьшению количества эластических мембран, их истончению и увеличением ширины межмембранных промежутков. Этот период у мужчин отмечается с 45 лет, у женщин – с 55 лет.

Список использованных источников

1. Mechanical contribution of lamellar and interlamellar elastin along the mouse aorta / T. E. Clark [et al.] // *J. of Biomechanics*. – 2015. – Vol. 48, iss. 13. – P. 3599–3605.
2. Farand, P. Structure of large arteries: Orientation of elastin in rabbit aortic internal elastic lamina and in the elastic lamellae of aortic media / P. Farand, A. Garon, G. E. Plante // *Microvasc. Res.* – 2007. – Vol. 73, iss. 2. – P. 95–99.
3. Investigation of the biomechanical integrity of decellularized rat abdominal aorta / M. Katsimpoulas [et al.] // *Transplantation Proc.* – 2015. – Vol. 47, iss. 4. – P. 1228–1233.
4. Yunjie, Wang. Arterial mechanics considering the structural and mechanical contributions of ECM constituents / Yunjie Wang, Shahrokh Zeinali-Davarani, Yanhang Zhang // *J. of Biomechanics*. – 2016. – Vol. 49, iss. 12. – P. 2358–2365.
5. Новикова, Е. Г. Морфологические особенности возрастных изменений в стенке аорты при расслаивающей аневризме / Е. Г. Новикова, И. Е. Галанкина // *Архив патологии*. – 2015. – Т. 77, № 1. – С. 18–22.
6. Blomgren, Bo. A novel method for quantification of the folding of elastic laminae in elastic arteries / Bo Blomgren, Camilla Göktürk // *Micron*. – 2008. – Vol. 39, iss. 5. – P. 623–630.
7. Humphrey, J. D. Mechanics, mechanobiology, and modeling of human abdominal aorta and aneurysms / J. D. Humphrey, G. A. Holzapfel // *J. of Biomechanics*. – 2012. – Vol. 45, iss. 5. – P. 805–814.
8. Martufi, G. Histo-mechanical modeling of the wall of abdominal aorta aneurysms / G. Martufi, T. C. Gasser // *IFAC Proc. Volumes*. – 2012. – Vol. 45, iss. 2. – P. 1035–1040.

References

1. Clark T. E., Lillie M. A., Vogl A. W., Gosline J. M., Shadwick R. E. Mechanical contribution of lamellar and interlamellar elastin along the mouse aorta. *Journal of Biomechanics*, 2015, vol. 48, iss. 13, pp. 3599–3605. doi. org/10.1016/j.jbiomech.2015.08.004.
2. Farand P., Garon A., Plante G. E. Structure of large arteries: Orientation of elastin in rabbit aortic internal elastic lamina and in the elastic lamellae of aortic media. *Microvascular Research*, 2007, vol. 73, iss. 2, pp. 95–99. doi. org/10.1016/j.mvr.2006.10.005.
3. Katsimpoulas M., Morticelli L., Michalopoulos E., Gontika I., Stavropoulos-Giokas C., Kostakis A., Haverich A., Korossis S. Investigation of the biomechanical integrity of decellularized rat abdominal aorta. *Transplantation Proceedings*, 2015, vol. 47, iss. 4, pp. 1228–1233. doi. org/10.1016/j.transproceed.2014.11.061.
4. Yunjie Wang, Shahrokh Zeinali-Davarani, Yanhang Zhang. Arterial mechanics considering the structural and mechanical contributions of ECM constituents. *Journal of Biomechanics*, 2016, vol. 49, iss. 12, pp. 2358–2365. doi. org/10.1016/j.jbiomech.2016.02.027.
5. Novikova E. G., Galankina I. E. Age-related morphological changes in the aortic wall in dissecting aneurysm. *Arkhiv patologii* [Archive of Pathology], 2015, vol. 77, no. 1, pp. 18–22. (in Russian).
6. Blomgren Bo, Göktürk Camilla. A novel method for quantification of the folding of elastic laminae in elastic arteries. *Micron*, 2008, vol. 39, iss. 5, pp. 623–630. doi. org/10.1016/j.micron.2007.03.010.

7. Humphrey J. D., Holzapfel G. A. Mechanics, mechanobiology, and modeling of human abdominal aorta and aneurysms. *Journal of Biomechanics*, vol. 45, iss. 5, pp. 805–814. doi. org/10.1016/j. jbiomech.2011.11.021.

8. Martufi G., Gasser T. C. Histo-mechanical modeling of the wall of abdominal aorta aneurysms. *IFAC Proceedings Volumes*, 2012, vol. 45, iss. 2, pp. 1035–1040. doi. org/10.3182/20120215–3-AT-3016.00183.

Информация об авторах

Юзефович Наталья Анатольевна – аспирант. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: doc2881@mail. ru.

Студеникина Татьяна Михайловна – канд. мед. наук, доцент, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: histology@bsmu. by.

Мельников Игорь Александрович – ст. преподаватель. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: melnicov@bsmu. by.

Information about the authors

Natallia A. Yuzefovich – Postgraduate student. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskiy Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: doc2881@mail. ru.

Tatiana M. Studenikina – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskiy Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: histology@bsmu. by.

Igor A. Melnikov – Senior Lecturer. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskiy Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: melnicov@bsmu. by.

Т. А. Курак¹, Л. Л. Авдей², Т. В. Ильина³, Н. П. Митьковская¹

¹Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

²Минский консультационно-диагностический центр, Минск, Республика Беларусь

³Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Республика Беларусь

МУЛЬТИСПИРАЛЬНАЯ КОМПЬЮТЕРНАЯ ТОМОГРАФИЯ В ДИАГНОСТИКЕ КОРОНАРНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Аннотация. Изучена взаимосвязь данных, полученных при скрининге коронарного кальция и компьютерно-томографической ангиографии коронарных артерий у пациентов с ревматоидным артритом. Установлено, что с помощью коронарного кальциевого индекса можно определять распространенность и тяжесть коронарного атеросклероза. При стратификации кардиоваскулярного риска у данной категории пациентов помимо оценки традиционных факторов сердечно-сосудистого риска необходимо учитывать активность системного воспаления.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, атеросклероз, мультиспиральная компьютерная томография, воспаление

Для цитирования: Мультиспиральная компьютерная томография в диагностике коронарного атеросклероза у пациентов с ревматоидным артритом / Т. А. Курак [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2017. – № 3. – С. 56–63.

T. A. Kurak¹, L. L. Avdey², T. V. Ilyina³, N. P. Mitkovskaya¹

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

²Minsk Diagnostic Center, Minsk, Republic of Belarus

³Scientific and Medical Research Center «Cardiology», Minsk, Republic of Belarus

MULTISPIRAL COMPUTER TOMOGRAPHY IN CORONARY ARTERY ATHEROSCLEROSIS DIAGNOSIS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Abstract. A link between the coronary calcium and coronary stenosis revealed by multispiral computer tomography in patients with rheumatoid arthritis was studied. Coronary artery calcium indicates the prevalence and severity of coronary atherosclerotic lesions. Traditional cardiovascular risk factors and systemic inflammatory activity should be considered in cardiovascular risk stratification in patients with rheumatoid arthritis.

Keywords: rheumatoid arthritis, atherosclerosis, multispiral computer tomography, inflammation

For citation: Kurak T. A., Avdey L. L., Ilyina T. V., Mitkovskaya N. P. Multispiral computer tomography in coronary artery atherosclerosis diagnosis in patients with rheumatoid arthritis. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 56–63 (in Russian).

Введение. Несмотря на значительные успехи в диагностике и лечении пациентов с ревматоидным артритом (РА) в последнее время, смертность среди этой категории больных остается выше, чем в общей популяции [1]. Основной причиной снижения продолжительности жизни пациентов с РА являются кардиоваскулярные осложнения, связанные с атеросклеротическим поражением сосудов и тромбозами [2, 3]. По данным коронароангиографии, РА является независимым фактором риска (ФР) многососудистого атеросклеротического поражения коронарных артерий [4], однако течение ишемической болезни сердца (ИБС) у данной категории пациентов в большинстве случаев носит бессимптомный характер [3]. При РА отмечены ранние рецидивы острого коронарного синдрома, увеличение летальности после первого инфаркта миокарда, низкий процент «критических» стенозов коронарных артерий, высокая частота выявления нестабильных атеросклеротических бляшек и более выраженные признаки воспаления в сосудистой стенке [5, 6].

Совершенствование методов патоморфологического исследования и применение компьютерной томографии позволило установить, что небольшие депозиты кальция встречаются уже на ранних стадиях атеросклеротического процесса, начиная с жировых пятен. Выявлена сильная

корреляционная связь коронарных обызвествлений с тяжестью поражения артерий по результатам гистологического, ангиографического и интраваскулярного ультразвукового исследований, что позволяет рассматривать коронарный кальциноз, выявляемый при компьютерной томографии, в качестве прямого маркера атеросклеротического поражения сосудов [7, 8]. В настоящее время с кальцификацией атеросклеротических бляшек связывают уменьшение их механической прочности, что обуславливает возникновение разрывов на границе кальциевых депозитов и свободных от кальция участков [9]. Метаанализ 4 исследований, выполненный М. J. Pletcher с соавт. [10], выявил прогностическую ценность коронарного кальциноза в отношении развития сердечно-сосудистых заболеваний у асимптомных пациентов.

Интерес к методам неинвазивного скрининга состояния сосудистого русла, а также определение клинических и биохимических факторов агрессивного течения атеросклероза у лиц с РА становятся все более обоснованными, однако в современной кардиологии отсутствует единый методологический подход к ранней диагностике атеросклеротического поражения сосудов у этих пациентов [11–13]. Не решена также задача определения места традиционных кардиоваскулярных ФР и активности системного воспаления в атерогенезе у лиц с РА [2, 14–16].

Оценка возможностей мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) в диагностике атеросклеротического поражения сосудов позволит усовершенствовать алгоритм раннего выявления поражения коронарных артерий у пациентов с РА, что, несомненно, расширит круг лиц, нуждающихся в проведении активных профилактических мероприятий, а также повысит показатели их выживаемости.

Цель исследования – изучить взаимосвязь данных, полученных при скрининге коронарного кальция и мультиспиральной компьютерной томографии коронарных артерий у лиц с ревматоидным артритом, и установить предикторы коронарного кальциноза у данной категории пациентов.

Материалы и методы исследования. Обследовано 82 пациента с диагнозом РА в возрасте 52 ± 5 лет, получавших в качестве базисной терапии метотрексат. Глюкокортикостероидные гормоны (ГКС) в низких дозах принимали 22 (26,83 %) пациента. Ремиссия РА по Disease Activity Score 28 (DAS 28) была характерна для 20 (24,39 %) пациентов, низкая активность – для 25 (30,49 %), средняя – для 37 (45,12 %). У 11 (13,41 %) пациентов диагностированы системные проявления РА. Группу сравнения составили 38 лиц в возрасте 51 ± 5 года, сопоставимых по полу, возрастному составу и кардиоваскулярным ФР, без РА и клинических проявлений ИБС.

Клиническое обследование лиц с РА включало сбор анамнестических данных, оценку активности РА с использованием индекса DAS 28, выраженности болей в суставах и степени влияния заболевания на общее состояние здоровья обследуемого с помощью визуально-аналоговой шкалы (ВАШ), выявление внесуставных проявлений заболевания, оценку функциональных возможностей пациента по опроснику Health Assessment Questionnaire (HAQ), измерение антропометрических показателей и артериального давления.

МСКТ выполняли на рентгеновском компьютерном томографе LightSpeed 32 Pro (GE Medical Systems Europe) в пошаговом режиме на протяжении от синусов Вальсальвы до нижней границы сердца при толщине среза 0,625 мм в сочетании с проспективной ЭКГ-синхронизацией. Величину и плотность кальцифицированного участка определяли с применением пакета неинвазивного программного обеспечения SmartScore 4.0, анализирующего изображения на рабочей станции Advantage Windows, General Electric Company.

Для оценки степени кальцификации коронарных артерий использовали три стандартизованные методики расчета кальциевого индекса (КИ) – метод Агатстона, вычисление объема кальциатов (объемный КИ) и измерение массового содержания кальция фосфата в местах поражения (массовый КИ).

Для МСКТ с контрастированием коронарных артерий использовали пошаговую томографию в краниокаудальном направлении от бифуркации трахеи до диафрагмы со временем выполнения одного среза 100 мс и синхронизацией с ЭКГ в позднюю фазу диастолы при минимальном движении стенок сердца. Ангиографический протокол МСКТ включал установку в периферическую вену соединенного с инфузоматом пластикового катетера, двухфазное введение 120 мл контрастного препарата омнипак с концентрацией йода 350 мг/мл (в первую фазу вводили 40 мл препарата

со скоростью 4 мл/с, во вторую фазу после паузы (10 с) – второй болюс 80 мл со скоростью 2 мл/с) и последующий анализ участков коронарных сосудов диаметром от 1,5 мм и более. Посегментно в каждом коронарном сосуде оценивали наличие или отсутствие признаков атеросклеротического поражения, кальциноза, степень стенозирования просвета сосуда (гемодинамически значимыми считались стенозы более 50 %).

Исследование липидного спектра в сыворотке крови, взятой из кубитальной вены после 12-часового голодания, проводили энзиматическим колориметрическим методом с применением биохимического анализатора ФП-901 фирмы LabSystems (Финляндия) и диагностических ферментных наборов Liquick CHOL-60, Liquick TG-60, HDL cholesterol. Содержание липопротеина а, аполипопротеина А1, аполипопротеина В, ревматоидного фактора (РФ), высокочувствительного С-реактивного белка (СРБ) определяли методом иммунотурбодиметрии с использованием наборов фирмы Dialab.

Для обработки полученных данных использовали статистические пакеты Excel, SPSS (версия 16.0, SPSS Incorporation, США), Statistica (версия 6.0, StatSoft, Inc., США), AtteStat.

С целью выделения наиболее информативных признаков, значимо влияющих на развитие атеросклеротического поражения сосудов, проведен многофакторный (регрессионный) анализ полученных данных с включением в модель наиболее значимых признаков. Построенные модели логит-регрессии оценивали на предмет качества классификации объектов, при этом рассчитывали чувствительность (Se), или долю истинно положительных случаев, и специфичность (Sp), или долю истинно отрицательных случаев. Для визуализации зависимости количества верно классифицированных положительных примеров от количества неверно классифицированных отрицательных примеров использовали ROC (Receiver Operator Characteristic)-кривую. Для сравнения ROC-кривых оценивали площадь под ними (Area Under Curve (AUC)).

Результаты и их обсуждение. В результате анализа данных МСКТ со скринингом коронарного кальция получены более высокие значения объемного КИ в подгруппе пациентов с системными проявлениями РА по сравнению с показателями пациентов, не имеющих системных проявлений (0 (0–17) и 51 (0–120), $p < 0,05$). Статистической значимости достигли различия КИ между подгруппой пациентов с системными проявлениями РА и группой лиц без РА (51 (0–120) и 0 (0–2), $p < 0,05$).

Более высокие значения КИ, рассчитанного по трем методикам, имели место в подгруппе пациентов со средней активностью артрита по сравнению с показателями подгруппы пациентов с ремиссией РА (объемный КИ – 17 (0–47) и 0 (0–1) мм³, $p < 0,05$; КИ по методу Агатстона – 15 (0–83) и 0 (0–1,5) ед., $p < 0,05$; массовый КИ – 2 (0–7) и 0 (0–0) мг, $p < 0,05$). Установлены более высокие значения КИ, рассчитанного по трем методикам, у пациентов со средней активностью РА, чем аналогичные показатели в группе сравнения (объемный КИ – 17 (0–47) и 0 (0–2) мм³, $p < 0,05$; КИ по методу Агатстона – 15 (0–83) и 0 (0–2) ед., $p < 0,05$; массовый КИ – 2 (0–7) и 0 (0–0) мг, $p < 0,01$).

Анализ клинической значимости полученных результатов оценивали с учетом четырех диапазонов значений КИ, согласно которым может быть определен риск сердечно-сосудистых осложнений [17, 18].

Удельный вес лиц, у которых значения КИ, рассчитанного по методу Агатстона, составляли 101 и более, был достоверно больше в подгруппе пациентов со средней активностью РА по сравнению с аналогичным показателем в группе лиц без РА (24,32 % ($n = 9$) и 0 % ($n = 0$), $p < 0,01$). Относительная частота встречаемости объемного КИ, равного 11–100, была статистически значимо более высокой в подгруппе пациентов со средней активностью РА, чем данный показатель в группе сравнения (40,54 % ($n = 15$) и 7,89 % ($n = 3$), $p < 0,01$). Удельный вес лиц, характеризующихся значениями КИ, рассчитанного по методу Агатстона и объему кальцинатов, равными 0, составил в группе сравнения 68,42 % ($n = 26$) и 65,79 % ($n = 25$), что статистически значимо ($p < 0,05$) превышало долю лиц с отсутствием кальциноза в подгруппе пациентов со средней активностью РА (32,43 % ($n = 12$) и 32,43 % ($n = 12$)).

МСКТ-ангиография выполнена у 33 пациентов с РА, средний возраст которых составил $54,2 \pm 4$ года. Целью исследования стала верификация стенозирующего атеросклероза коронарных сосудов и определение диагностической значимости КИ и распространенности поражения коронарных сосудов при РА.

При выполнении МСКТ-ангиографии стенозы выявлены у 24 (72,73 %) пациентов с РА, при этом гемодинамически значимыми они оказались у 8 (24,24 %) обследуемых.

Медиана значений КИ у пациентов с РА при наличии стенозов коронарных сосудов была достоверно выше в сравнении с показателями пациентов без стенозирующего атеросклеротического поражения указанных артерий (объемный КИ – 25,5 (2,5–98,5) и 0 (0–2) мм³, $p < 0,01$; КИ по методу Агатстона – 44,5 (1–296) и 0 (0–1) ед., $p < 0,01$; массовый КИ – 4 (0–30) и 0 (0–0,5) мг, $p < 0,05$).

Сравнительный анализ полученных результатов показал, что неокклюзирующее поражение коронарных артерий у пациентов с РА сопровождается более низкими значениями КИ, в отличие от показателей, рассчитанных при гемодинамически значимых стенозах.

Установлено, что у 9 (37,5 %) пациентов с РА в атеросклеротический процесс вовлечено более одного коронарного сосуда. Оценка значений КИ у пациентов с РА и различной распространенностью поражения коронарных артерий выявила статистически значимое увеличение кальциноза у пациентов с многососудистым поражением по сравнению с аналогичным показателем при однососудистом поражении (КИ по методу Агатстона – 208 (83–359) и 12 (0–209) ед., $p < 0,05$; массовый КИ – 27,5 (6–50) и 0 (0–4) мг, $p < 0,01$).

С целью определения независимых предикторов развития атеросклеротического процесса в коронарных артериях нами проведен многофакторный анализ, где в качестве анализируемых признаков использованы традиционные кардиоваскулярные ФР и следующие характеристики РА: длительность РА, гормональной терапии, наличие системных проявлений РА, показатели DAS 28, боли в суставах по ВАШ и функциональные возможности по опроснику HAQ, рентгенологическая стадия поражения суставов, серопозитивность по РФ, уровни РФ и высокочувствительного СРБ.

В качестве предикторов кальцификации венечных артерий (КИ > 0) следует учитывать показатель активности артрита DAS 28 и уровень высокочувствительного СРБ (стандартизованные коэффициенты 0,45 и 0,17 соответственно, характеристика полученной регрессионной модели: $\chi^2 = 16,41$, $p = 0,0003$). Общий показатель верной классификации составил 70,89 %. По результатам выполненного ROC-анализа чувствительность модели равнялась 62 %, специфичность – 80 %. Показатели AUC, полученные при построении ROC-кривых (0,775 и 0,765), указывают на «хорошее» качество модели.

Возраст и цифры артериального давления (стандартизованные коэффициенты 0,11 и 1,59 соответственно, характеристика полученной регрессионной модели: $\chi^2 = 20,99$, $p = 0,0000$) обладали информативностью в детерминировании кальцификации венечных артерий (КИ > 0). Общий показатель верных предсказаний составил 71,95 %. При выполнении ROC-анализа чувствительность модели равнялась 70 %, специфичность – 73,8 %. Выполненный регрессионный анализ продемонстрировал влияние активности РА, оцененной с помощью индекса DAS 28, на развитие стенозирующего атеросклероза коронарных артерий по данным МСКТ-ангиографии (стандартизованный коэффициент 0,84, характеристика полученной регрессионной модели: $\chi^2 = 4,51$, $p = 0,0338$). Общий показатель верных предсказаний составил 72,73 %. Чувствительность модели, или доля истинно положительных случаев, по данным ROC-анализа равнялась 92 %, специфичность – 22 %. Получены 4 совпадающие ROC-кривые, имеющие наилучшие показатели AUC – 0,731. Согласно экспертной шкале, интервалу AUC, равному 0,7–0,8, соответствует «хорошее» качество модели.

Проведенное исследование вносит несомненный вклад в развитие концепции максимально ранней диагностики атеросклеротического процесса в коронарных сосудах пациентов с РА. Несмотря на высокую прогностическую ценность коронарного атеросклероза в отношении развития сердечно-сосудистых заболеваний у асимптомных пациентов, доступны результаты лишь немногочисленных исследований (в частности, обзор Д. С. Новиковой с соавт. [19]), посвященных определению уровня кальция в коронарных артериях при РА. Нами продемонстрирована большая распространенность коронарного кальциноза у пациентов с РА, получавших в качестве базисной терапии метотрексат, в сравнении с показателями сопоставимых по кардиоваскулярным ФР лиц без РА. При проведении МСКТ показана высокая сопоставимость данных, полученных при скрининге коронарного кальция и ангиографии коронарных артерий, что является дополнительным основанием для включения данной методики в алгоритм обследования пациентов с РА.

Сведения о том, что 10-летний риск кардиоваскулярных событий по Фремингемским критериям не превышает 7 % у пациентов с РА и наличием атеросклеротических бляшек в сонных

артериях, а также факт развития у половины больных РА сердечно-сосудистых осложнений в отсутствие «классических» ФР атеросклероза, предполагают оценку значимости активности РА и показателей, связанных с выраженностью системного воспаления, для стратификации риска у данной категории пациентов [3, 20]. В нашем исследовании предикторами атеросклеротического поражения коронарных артерий по данным МСКТ являются индекс активности артрита DAS 28, уровень высокочувствительного СРБ, возраст и уровень артериального давления.

Большинство исследователей рассматривают РА как фактор кардиоваскулярного риска независимо от возраста, пола, факта курения, наличия диабета, гиперхолестеролемии, артериальной гипертензии, отягощенной наследственности, однако имеются публикации, где доказывается превалирование традиционных риск-факторов у пациентов с РА по сравнению с лицами без РА [15, 21, 22], а также их связь с наличием субклинических проявлений атеросклероза и развитием сосудистых катастроф у этой категории лиц [2, 14, 23]. В нашем исследовании продемонстрировано влияние возраста и артериальной гипертензии на развитие коронарного атеросклероза по данным МСКТ, что предполагает тщательный контроль артериального давления у данной категории пациентов с целью определения показаний для максимально ранней антигипертензивной терапии.

В настоящее время активно обсуждается роль показателей, связанных с активностью заболевания и терапией РА, в патогенезе атеросклеротического поражения сосудов [24, 25]. Выявленная ассоциация повышенного отложения кальция в стенках коронарных артерий с длительностью РА позволяет предположить, что кумулятивный эффект болезни или ее лечения потенцируют кардиоваскулярный риск [26]. Установлено увеличение шансов наличия коронарного кальциноза и более выраженного коронарного кальциноза (КИ > 100) (отношения шансов (ОШ) 1,87 и 4,04 соответственно) у женщин с РА без сахарного диабета и клинических проявлений ССЗ по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе, причем поправка на уровень СРБ привела, в отличие от традиционных ФР, к утрате достоверности различий [27]. Анализ данных, полученных в исследовании Y. H. Rho с соавт. [28], продемонстрировал ассоциацию коронарного КИ с уровнями фактора некроза опухоли- α и интерлейкином-6 с поправкой на Фремингемские критерии риска и наличие сахарного диабета. После учета традиционных ФР у пациентов с РА отмечалась достоверно большая, чем в контрольной группе, частота выявления коронарного кальциноза, причем наибольшие различия наблюдались между мужчинами и в группе молодых пациентов (45–54 года), а увеличение активности РА ассоциировалось с выраженностью поражения венечных сосудов. При включении в модель анализа интерлейкина-6 эта взаимосвязь в различной степени ослабевала, что предполагает участие последнего в качестве медиатора атеросклеротического процесса у данной категории лиц [29]. Полученные нами данные демонстрируют роль системного воспаления в атерогенезе пациентов с РА, что может быть объяснено множественными эффектами провоспалительных цитокинов на жировую ткань, скелетные мышцы, печень, иммунную систему, свертывающую систему крови, эндотелий. Результатом активации системного воспаления становятся атерогенная модификация липопротеинов, уменьшение числа эндотелиальных клеток-предшественников, увеличение артериальной жесткости и содержания атерогенных Т-клеток, развитие инсулинорезистентности, эндотелиальной дисфункции, гиперкоагуляции, гипергомоцистеинемии, оксидативного стресса [30–32].

Подтверждением роли системного воспаления в генезе сердечно-сосудистых осложнений может рассматриваться факт уменьшения кардиоваскулярного риска в результате активной базисной противовоспалительной терапии [33].

Заключение. В связи с выраженностью атеросклеротического процесса в коронарных сосудах на фоне отсутствия клинических признаков их поражения у пациентов с РА рекомендовано использование скрининговых диагностических процедур, включающих проведение МСКТ, с целью стратификации кардиоваскулярного риска и определения необходимости дальнейших исследований. Учитывая влияние активности заболевания на развитие атеросклеротического поражения сосудов, лица с РА нуждаются в тщательном мониторинге выраженности системного воспаления, включающем динамическое определение уровня высокочувствительного СРБ и оценку активности артрита с использованием индекса DAS 28, с целью максимально ранней коррекции проводимой терапии.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Mortality in rheumatoid arthritis. Increased in the early course of disease, in ischaemic heart disease and in pulmonary fibrosis / A. Young [et al.] // *Rheumatology*. – 2007. – Vol. 46, iss. 2. – P. 350–357.
2. Cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: results from the QUEST-RA study / A. Naranjo [et al.] // *Arthritis Res. Ther.* – 2008. – Vol. 10, iss. 2. – P. 30.
3. Increased unrecognized coronary heart disease and sudden deaths in rheumatoid arthritis: a population-based cohort study / H. Maradit-Kremers [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2005. – Vol. 52, iss. 2. – P. 402–411.
4. Rheumatoid arthritis is an independent risk factor for multi-vessel coronary artery disease: a case control study / K. J. Warrington [et al.] // *Arthritis Res. Ther.* – 2005. – Vol. 7, iss. 5. – P. 984–991.
5. Differences in atherosclerotic coronary heart disease between subjects with and without rheumatoid arthritis / M. C. Aubry [et al.] // *J. Rheumatol.* – 2007. – Vol. 34, iss. 5. – P. 937–942.
6. Increased incidence of and impaired prognosis after acute myocardial infarction among patients with seropositive rheumatoid arthritis / A. Sodergren [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2007. – Vol. 66, iss. 2. – P. 263–266.
7. Синицын, В. Е. Новая роль мультиспиральной компьютерной томографии в диагностике болезней сердца и сосудов / В. Е. Синицын, С. К. Терновой // *Терапевт. архив*. – 2007. – № 4. – С. 5–10.
8. Coronary artery calcium areas by electron beam computed tomography and coronary atherosclerotic plaque area: a histopathologic correlative study / J. A. Rumberger [et al.] // *Circulation*. – 2000. – Vol. 92, iss. 74. – P. 2157–2162.
9. A hypothesis for vulnerable plaque rupture due to stress-induced debonding around cellular microcalcifications in thin fibrous caps / Y. Vengrenyuk [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2006. – Vol. 103, iss. 40. – P. 14678–14683.
10. Using the coronary artery calcium score to predict coronary heart disease events: a systematic review and meta-analysis / M. J. Pletcher [et al.] // *Arch. Intern. Med.* – 2004. – Vol. 164, iss. 12. – P. 1285–1292.
11. Coronary arterial calcification in rheumatoid arthritis: comparison with the multi-ethnic study of atherosclerosis / J. T. Giles [et al.] // *Arthritis Res. Ther.* – 2009. – Vol. 11, iss. 2. – P. 36.
12. Carotid atherosclerosis predicts incident acute coronary syndromes in rheumatoid arthritis / M. R. Evans [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2011. – Vol. 63, iss. 5. – P. 1211–1220.
13. Exercise echocardiography in rheumatoid arthritis: a case-control study / M. K. Saghir [et al.] // *J. Am. Soc. Echocardiogr.* – 2009. – Vol. 22, iss. 11. – P. 1228–1231.
14. Факторы риска кардиоваскулярных заболеваний при ревматоидном артрите / Т. В. Попкова [и др.] // *Науч.-практ. ревматология*. – 2009. – № 3. – С. 4–12.
15. Do cardiovascular risk factors confer the same risk for cardiovascular outcomes in rheumatoid arthritis patients as in non-rheumatoid arthritis patients? / A. Gonzalez [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2008. – Vol. 67, iss. 1. – P. 64–69.
16. Mirjafari, H. Cardiovascular risk factors in inflammatory arthritis / H. Mirjafari, A. Al-Husain, I. N. Bruce // *Curr. Opin. Lipidol.* – 2011. – Vol. 22, iss. 4. – P. 296–301.
17. Терновой, С. К. Неинвазивная диагностика атеросклероза и кальциноза коронарных артерий / С. К. Терновой. – М.: Атмосфера, 2003 – 415 с.
18. ACCF/AHA 2007 Clinical Expert Consensus Document on Coronary Artery Calcium Scoring By Computed Tomography in Global Cardiovascular Risk Assessment and in Evaluation of Patients With Chest Pain / P. Greenland [et al.] // *JACC*. – 2007. – Vol. 49, iss. 3. – P. 378–402.
19. Определение кальция в коронарных артериях: новые возможности стратификации риска развития сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с аутоиммунными заболеваниями / Д. С. Новикова [и др.] // *Науч.-практ. ревматология*. – 2009. – № 3. – С. 60–66.
20. Accelerated atherosclerosis in rheumatoid arthritis / Z. Szekanecz [et al.] // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2007. – Vol. 1108. – P. 349–358.
21. High incidence of cardiovascular events in a rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors / del I. D. Rincon [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2001. – Vol. 44, iss. 12. – P. 2737–2745.
22. Wolfe, F. Increase in cardiovascular and cerebrovascular disease prevalence in rheumatoid arthritis / F. Wolfe, B. Freundlich, W. L. Straus // *J. Rheumatol.* – 2003. – Vol. 30, iss. 1. – P. 36–40.
23. Influence of nonclassical cardiovascular risk factors on the accuracy of predicting subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis / P. H. Dessein [et al.] // *J. Rheumatol.* – 2007. – Vol. 34, iss. 5. – P. 943–951.
24. Cardiovascular events in early RA are a result of inflammatory burden and traditional risk factors: a five year prospective study / L. Innala [et al.] // *Arthritis Res. Ther.* – 2011. – Vol. 13, iss. 4. – P. 131.
25. Kleinert, S. Cardiovascular comorbidity and its risk factors in rheumatoid arthritis / S. Kleinert, K. Krueger // *Rheumatol.* – 2011. – Vol. 70, iss. 6. – P. 464–472.
26. Chung, C. P. Increased coronary artery atherosclerosis in rheumatoid arthritis: relationship to disease duration and cardiovascular risk factors / C. P. Chung, A. Oeser, P. Raggi // *Arthritis Rheum.* – 2005. – Vol. 52, iss. 10. – P. 3045–3053.
27. Kao, A. H. C-reactive protein and coronary artery calcium in asymptomatic women with systemic lupus erythematosus or rheumatoid arthritis / A. H. Kao, M. C. Wasko, S. Krishnaswami // *Am. J. Cardiol.* – 2008. – Vol. 102, iss. 6. – P. 755–760.
28. Inflammatory mediators and premature coronary atherosclerosis in rheumatoid arthritis / Y. H. Rho [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2009. – Vol. 61, iss. 11. – P. 1580–1585.
29. Ребров, А. П. Факторы риска развития сердечно-сосудистых заболеваний при псориазическом и ревматоидном артрите / А. П. Ребров, Н. М. Никитина, И. З. Гайдукова // *Терапевт. архив*. – 2011. – № 83. – С. 20–24.

30. Bisoendial, R. J. Critical determinants of cardiovascular risk in rheumatoid arthritis / R. J. Bisoendial, E. S. Stroes, P. P. Tak // *Curr. Pharm. Des.* – 2011. – Vol. 17, iss. 1. – P. 21–26.
31. Systemic inflammation as a risk factor for atherothrombosis / van S. I. Leuven [et al.] // *Rheumatology*. – 2008. – Vol. 47, iss 1. – P. 3–7.
32. Methotrexate and mortality in patients with rheumatoid arthritis: a prospective study / H. K. Choi [et al.] // *Lancet*. – 2002. – Vol. 359, iss. 9313. – P. 1173–1177.

References

1. Young A., Koduri G., Batley M., Kulinskaya E., Gough A., Norton S., Dixey J. Mortality in rheumatoid arthritis. Increased in the early course of disease, in ischaemic heart disease and in pulmonary fibrosis. *Rheumatology*, 2007, vol. 46, no. 2, pp. 350–357. doi: 10.1093/rheumatology/kel253.
2. Naranjo A., Sokka T., Descalzo M. A., Calvo-Alf n J., H rslev-Petersen K., Luukkainen R. K., Combe B., Burmester G. R., Devlin J., Ferraccioli G., Morelli A., Hoekstra M., Majdan M., Sadkiewicz S., Belmonte M., Holmqvist A. C., Choy E., Tunc R., Dimic A., Bergman M., Toloza S., Pincus T. Cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: results from the QUEST-RA study. *Arthritis Research and Therapy*, 2008, vol. 10, no. 2, p. 30. doi: 10.1186/ar2383.
3. Maradit-Kremers H., Crowson C. S., Nicola P. J., Ballman K. V., Roger V. L., Jacobsen S. J., Gabriel S. E. Increased unrecognized coronary heart disease and sudden deaths in rheumatoid arthritis: a population-based cohort study. *Arthritis and Rheumatism*, 2005, vol. 52, no. 2, pp. 402–411. doi:10.1002/art.20853.
4. Warrington K. J., Kent P. D., Frye R. L., Lymp J. F., Kopecky S. L., Goronzy J. J., Weyand C. M. Rheumatoid arthritis is an independent risk factor for multi-vessel coronary artery disease: a case control study. *Arthritis Research and Therapy*, 2005, vol. 7, no. 5, pp. 984–991.
5. Aubry M. C., Maradit-Kremers H., Reinalda M. S., Crowson C. S., Edwards W. D., Gabriel S. E. Differences in atherosclerotic coronary heart disease between subjects with and without rheumatoid arthritis. *The Journal of Rheumatology*, 2007, vol. 34, no. 5, pp. 937–942.
6. S drgren A., Stegmayr B., Lundberg V., Ohman M. L., Wellberg-Jonsson S. Increased incidence of and impaired prognosis after acute myocardial infarction among patients with seropositive rheumatoid arthritis. *Annals of Rheumatic Diseases*, 2007, vol. 66, no. 2, pp. 263–266. doi:10.1136/ard.2006.052456.
7. Sinitsyn V. E., Ternovoi S. K. New role of multispiral computed tomography in heart and vessels diseases diagnostic. *Terapevticheskii arkhiv* [Therapeutic archive], 2007, no. 4, pp. 5–10. (in Russian).
8. Rumberger J. A., Simons D. B., Fitzpatrick L. A., Sheedy P. F., Schwartz R. S. Coronary artery calcium areas by electron beam computed tomography and coronary atherosclerotic plaque area: a histopathologic correlative study. *Circulation*, 2000, vol. 92, no. 74, pp. 2157–2162.
9. Vengrenyuk Y., Carlier S., Xanthos S., Cardoso L., Ganatos P., Virmani R., Einav S., Gilchrist L., Weinbaum S. A hypothesis for vulnerable plaque rupture due to stress-induced debonding around cellular microcalcifications in thin fibrous caps. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 2006, vol. 103, no. 40, pp. 14678–14683. doi: 10.1073/pnas.0606310103.
10. Pletcher M. J., Tice J. A., Pignone M., Browner W. S. Using the coronary artery calcium score to predict coronary heart disease events: a systematic review and meta-analysis. *Archives of Internal Medicine*, 2004, vol. 164, no. 12, pp. 1285–1292.
11. Giles J. T., Szklo M., Post W., Petri M., Blumenthal R. S., Lam G., Gelber A. C., Detrano R., Scott W. W. Jr., Kronmal R. A., Bathon J. M. Coronary arterial calcification in rheumatoid arthritis: comparison with the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Arthritis Research and Therapy*, 2009, vol. 11, no. 2, p. 36.
12. Evans M. R., Escalante A., Battafarano D. F., Freeman G. L., O’Leary D. H., del Rincyn I. Carotid atherosclerosis predicts incident acute coronary syndromes in rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 2011, vol. 63, no. 5, pp. 1211–1220. doi: 10.1002/art.30265.
13. Saghiri M. K., Attenhofer Jost C., Warrington K. J., Cha S. S., Pellikka P. A. Exercise echocardiography in rheumatoid arthritis: a case-control study. *Journal of American Society of Echocardiography*, 2009, vol. 22, no. 11, pp. 1228–1231.
14. Popkova T. V., Novikova D. S., Pisarev V. V., Mach E. S., Nasonov Ye. L. Cardiovascular risk factors in rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya* [Science and Practical Rheumatology], 2009, no. 3, pp. 4–12. (in Russian).
15. Gonzalez A., Maradit-Kremers H., Crowson C. S., Ballman K. V., Roger V. L., Jacobsen S. J., O’Fallon W. M., Gabriel S. E. Do cardiovascular risk factors confer the same risk for cardiovascular outcomes in rheumatoid arthritis patients as in non-rheumatoid arthritis patients? *Annals of Rheumatic Diseases*, 2008, vol. 67, no. 1, pp. 64–69. doi:10.1136/ard.2006.059980.
16. Mirjafari H., Al-Husain A., Bruce I. N. Cardiovascular risk factors in inflammatory arthritis. *Current Opinion in Lipidology*, 2011, vol. 22, no. 4, pp. 296–301. doi: 10.1097/MOL.0b013e3283488c50.
17. Ternovoi S. K. *Noninvasive diagnostic of atherosclerosis and coronary artery calcinosis*. Moscow, Atmosfera [Atmosphere], 2003. 415 p. (in Russian).
18. Greenland P., Bonow R. O., Brundage B. H., Budoff M. J., Eisenberg M. J., Grundy S. M., Lauer M. S., Post W. S., Raggi P., Redberg R. F., Rodgers G. P., Shaw L. J., Taylor A. J., Weintraub W. S. ACCF/AHA 2007 Clinical Expert Consensus Document on Coronary Artery Calcium Scoring By Computed Tomography in Global Cardiovascular Risk Assessment and in Evaluation of Patients With Chest Pain. *Journal of American College of Cardiology*, 2007, vol. 49, no. 3, pp. 378–402.
19. Novikova D. S., Popkova T. V., Mach E. S., Nasonov E. L. Coronary calcium: new opportunities in cardiovascular risk stratification in patients with autoimmune diseases. *Nauchno-prakticheskaja revmatologija* [Science and Practical Rheumatology], 2009, no. 3, pp. 60–66. (in Russian).

20. Szekanecz Z., Kerekes G., Dér H., Sándor Z., Szabó Z., Végvári A., Simkovics E., Soós L., Szentpétery A., Besenyei T., Szücs G., Szántó S., Tamási L., Szegedi G., Shoenfeld Y., Soltész P. Accelerated atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Annals of the New York Academy of Science*, 2007, vol. 1108, pp. 349–358.

21. Del Rincyn I. D., Williams K., Stern M. P., Freeman G. L., Escalante A. High incidence of cardiovascular events in a rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors. *Arthritis and Rheumatism*, 2001, vol. 44, no. 12, pp. 2737–2745.

22. Wolfe F., Freundlich B., Straus W. L. Increase in cardiovascular and cerebrovascular disease prevalence in rheumatoid arthritis. *The Journal of Rheumatology*, 2003, vol. 30, no. 1, pp. 36–40.

23. Dessein P. H., Norton G. R., Woodiwiss A. J., Joffe B. I., Wolfe F. Influence of nonclassical cardiovascular risk factors on the accuracy of predicting subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *The Journal of Rheumatology*, 2007, vol. 34, no. 5, pp. 943–951.

24. Innala L., Müller B., Ljung L., Magnusson S., Smedby T., Södergren A., Цhman M. L., Rantardд-Dahlqvist S., Wellberg-Jonsson S. Cardiovascular events in early RA are a result of inflammatory burden and traditional risk factors: a five year prospective study. *Arthritis Research and Therapy*, 2011, vol. 13, no. 4, p. 131.

25. Kleiner S., Krueger K. Cardiovascular comorbidity and its risk factors in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 2011, vol. 70, no. 6, pp. 464–472. doi:10.1007/s00393-011-0755-0.

26. Chung C. P., Oeser A., Raggi P. Increased coronary artery atherosclerosis in rheumatoid arthritis: relationship to disease duration and cardiovascular risk factors. *Arthritis and Rheumatism*, 2005, vol. 52, no. 10, pp. 3045–3053.

27. Kao A. H., Wasko M. C., Krishnaswami S. C-reactive protein and coronary artery calcium in asymptomatic women with systemic lupus erythematosus or rheumatoid arthritis. *American Journal of Cardiology*, 2008, vol. 102, no. 6, pp. 755–760.

28. Rho Y. H., Chung C. P., Oeser A., Solus J., Asanuma Y., Sokka T., Pincus T., Raggi P., Gebretsadik T., Shintani A., Stein C. M. Inflammatory mediators and premature coronary atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, vol. 61, 2009, no. 11, pp. 1580–1585. doi: 10.1002/art.25009.

29. Rebrov A. P., Nikitina N. M., Gaidukova I. Z. Cardiovascular risk factors in rheumatoid and psoriatic arthritis. *Terapevticheskii arkhiv* [Therapeutic archive], 2011, vol. 83, pp. 20–24. (in Russian).

30. Bisoendial R. J., Stroes E. S., Tak P. P. Critical determinants of cardiovascular risk in rheumatoid arthritis. *Current Pharmaceutical Design*, 2011, vol. 17, no. 1, pp. 21–26.

31. Van Leuven S. I., Franssen R., Kastelein J. J., Levi M., Stroes E. S., Tak P. P. Systemic inflammation as a risk factor for atherothrombosis. *Rheumatology*, 2008, vol. 47, no. 1, pp. 3–7. doi:10.1093/rheumatology/kem202.

32. Choi H. K., Hernán M. A., Seeger J. D., Robins J. M., Wolfe F. Methotrexate and mortality in patients with rheumatoid arthritis: a prospective study. *Lancet*, 2002, vol. 359, no. 9313, pp. 1173–1177.

Информация об авторах

Курак Татьяна Александровна – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kurak.tatjana@gmail.com.

Авдей Людмила Леонидовна – канд. мед. наук, заведующий отделением. Минский консультационно-диагностический центр (220045, г. Минск, ул. Семашко, 10). E-mail: mkdc@tut.by.

Ильина Татьяна Валерьевна – заведующий отделением. Республиканский научно-практический центр «Кардиология» (ул. Р. Люксембург, 110В, 220036, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: its4ita@gmail.com.

Митьковская Наталья Павловна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mitkovskaya1@mail.ru.

Information about the authors

Tatyana A. Kurak – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskiy Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kurak.tatjana@gmail.com.

Ludmila L. Avdey – Ph. D. (Med.), Head of the Department. Minsk diagnostic center, Minsk (10, Semashko Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mkdc@tut.by.

Tatyana V. Ilyina – Head of the Department. Republican Scientific and Practical Center “Cardiology”, Minsk, Republic of Belarus (110B, R. Luxemburg Str., 220036, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: its4ita@gmail.com.

Natalya P. Mitkovskaya – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskiy Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mitkovskaya1@mail.ru.

С. В. Спиридонов*Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Республика Беларусь***РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА СЕРДЦА У ПАЦИЕНТОВ
ПОСЛЕ ИМПЛАНТАЦИИ АОРТАЛЬНОГО АЛЛОГРАФТА**

Аннотация. Целью данного исследования являлось изучение ремоделирования левого желудочка (ЛЖ) сердца у пациентов после имплантации аллографтов в аортальную позицию в отдаленном периоде. С февраля 2009 г. по июль 2016 г. протезирование аортального клапана с использованием аллографтов выполнено у 102 пациентов. Функцию аллографта и ЛЖ сердца оценивали в послеоперационном периоде на 7–10-е сутки, в отдаленном послеоперационном периоде – через 3, 6 мес., 1, 2, 3 года. Имплантированные аллографты в аортальной позиции показали удовлетворительные гемодинамические показатели как в раннем, так и в позднем послеоперационном периоде. При этом показатели площади эффективного отверстия не изменились на всех размерах аллографтов. В то же время отмечалось достоверное уменьшение максимальной скорости на аортальных аллографтах, что привело к субоптимальным показателям систолического и среднего градиентов в раннем послеоперационном периоде, уменьшившимся до показателей нормы для нативного аортального клапана в промежутке времени от 3 мес. до 2 лет.

В первые 3 мес. после имплантации аллографтов в аортальную позицию достоверно происходило ремоделирование ЛЖ сердца, приводившее к уменьшению конечно-диастолического и конечно-систолического размеров и объемов ЛЖ, восстановлению его фракции выброса, уменьшению толщины миокарда задней стенки ЛЖ как во время систолы, так и во время диастолы. В то же время за исследуемый период наблюдалось достоверное уменьшение толщины миокарда межжелудочковой перегородки во время диастолы. Причем данные изменения были достоверны в сроки от 6 мес. до 1 года и от 2 до 3 лет после хирургического вмешательства. Произшедшее ремоделирование ЛЖ привело к достоверному улучшению качества жизни пациентов, оцененное с помощью опросника MLHFQ, в сроки до 3 мес. после имплантации.

Таким образом, использование аллографтов в аортальной позиции позволяет в значительной степени приблизиться к параметрам функционирования нативного клапана как в раннем, так и в отдаленном (3 года) периоде.

Ключевые слова: аллографты, гемодинамические показатели, ремоделирование левого желудочка сердца

Для цитирования: Спиридонов, С. В. Ремоделирование левого желудочка сердца у пациентов после имплантации аортального аллографта / С. В. Спиридонов // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2017. – № 3. – С. 64–71.

S. V. Spiridonov*Republican Scientific and Practical Center «Cardiology», Minsk, Republic of Belarus***HEART LEFT VENTRICLE REMODELING IN PATIENTS
AFTER IMPLANTATION OF AORTIC ALLOGRAFT**

Abstract. The study was aimed at learning the left ventricle remodeling in patients after aortic allograft implantation during the long-term follow-up. From February 2009 to July 2016 the aortic valve replacement with allografts was performed in 102 patients. Hemodynamic parameters of implanted allografts and left ventricle function were assessed for 7–10 days postoperatively and at long-term follow-up visits: in 3 and 6 months, 1, 2 and 3 years. Implanted aortic allografts are characterized by satisfactory hemodynamic parameters in early and late postoperative periods. The effective orifice area of implanted valves did not change in any of the implanted allografts during the period under study. At the same time, there was a significant reduction in the maximum speed across the aortic valve, resulting in suboptimal systolic and mean gradients in the early postoperative period, which declined to normal values from 3 months to 2 years postoperatively.

During the first 3 months after the aortic allograft implantation there was a statistically significant left ventricle remodeling, which led to a decrease in end-diastolic and end-systolic left ventricle sizes and volumes, as well as to the restoration of the left ventricle ejection fraction. During the same period there was a reduction in the left ventricle myocardium thickness both during systole and diastole. At the same time, there was a significant reduction in the thickness of the interventricular septum myocardium during diastole. The changes described were statistically significant during the following periods: from 6 months to 1 year and from 2 to 3 years postoperatively.

Left ventricle remodeling resulted in a significant improvement in the patients' quality of life up to 3 months postoperatively, assessed using a MLHFQ questionnaire.

During the first 3 months after aortic allograft implantation, the left ventricle was remodeled, which resulted in a decrease in end-diastolic and end-systolic left ventricle sizes, as well as in an increase in the left ventricle contractility. The life quality of patients after allograft implantation significantly improves during the first 3 months.

Aortic allografts in the aortic position generally resemble the functioning of the native aortic valve during early and long-term (3-years) follow-up. During first three months after aortic allograft implantation we observed the left ventricle remodeling, which led to a decrease in the left ventricle end-diastolic and end-systolic sizes, as well as to a decrease in the end-diastolic and end-systolic left ventricle volume, and to an increase in the left ventricle contractility. The quality of life in patients after aortic allograft implantation significantly improved during first three months postoperatively.

Keywords: allografts, hemodynamic parameters, left ventricle remodeling

For citation: Spiridonov S. V. Heart left ventricle remodeling in patients after implantation of aortic allograft. *Vesti Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 64–71 (in Russian).

Введение. При стенозе аортального клапана или возникновении дисфункции протеза препятствие нормальному току крови из левого желудочка (ЛЖ) сердца в аорту вызывает включение ряда компенсаторных механизмов и прежде всего формирование выраженной его гипертрофии. Эта фаза компенсации может быть довольно длительной, а в дальнейшем – переходить в декомпенсацию с развитием дилатации ЛЖ. При недостаточности аортального клапана или протеза в период диастолы ЛЖ наполняется как за счет поступления крови из левого предсердия, так и в результате аортальной регургитации, что приводит к возрастанию конечного диастолического объема и диастолического давления в полости ЛЖ. В течение длительного времени увеличение возросшего объема крови компенсируется усилением силы сокращения ЛЖ по закону Старлинга. Вследствие этого ЛЖ значительно гипертрофируется. В результате хронической объемной перегрузки ЛЖ развивается компенсаторная эксцентрическая гипертрофия миокарда, а затем и дилатация полости ЛЖ. Структурно-геометрические изменения ЛЖ сердца в настоящее время обозначаются как ремоделирование.

Замена аортального клапана любым видом протеза предполагает наличие остаточного градиента на протезе. Одним из основных недостатков, характерных как для механических, так и для каркасных биологических протезов, является отсутствие оптимальной конструкции протеза, приводящей к увеличению трансклапанных градиентов при уменьшении диаметра протеза. Остаточный градиент является причиной сохранения или неполной регрессии гипертрофии ЛЖ после замены клапана аорты, что может быть связано с более высоким уровнем смертности [1]. Вопрос о возможности обратного ремоделирования миокарда после устранения причины, вызвавшей изменение ЛЖ, представляет значительный интерес для клиницистов. Уменьшение массы миокарда ЛЖ после протезирования аортального клапана является результатом регрессии клеточной гипертрофии и интерстициального фиброза миокарда. Это явление широко изучено ранее [2]. Многие исследования показывают, что наличие протез–пациент несоответствия, приводящего к высокому транспротезному градиенту, вызывает неполную регрессию гипертрофии ЛЖ и связано с нарушением диастолической функции ЛЖ и увеличением риска внезапной смерти [3], а также с незначительным клиническим улучшением [4]. В большинстве публикаций приводятся данные, что вид протеза имеет ведущее значение в обратном развитии гипертрофии ЛЖ [5, 6].

Аллографты, используемые для протезирования корня аорты, продемонстрировали в раннем послеоперационном периоде отличные гемодинамические параметры.

Цель данного исследования – изучение ремоделирования левого желудочка сердца у пациентов после имплантации аллографтов в позицию аортального клапана.

Материалы и методы исследования. Данное исследование одобрено этическим комитетом ГУ РНПЦ «Кардиология» № 4а от 21 февраля 2012 г. С февраля 2009 г. по июль 2016 г. протезирование аортального клапана с использованием аллографтов выполнено у 102 пациентов. Криволинейные аллографты использованы в 86 (84,3 %) случаях, антибиотикостерилизованные – в 14 (13,7 %), гомовитальные – в 2 (1,96 %).

Все аллографты аортального клапана получены от доноров при мультиорганном заборе после констатации смерти головного мозга. Всем донорам проводились серологические исследования на инфекционные заболевания: гепатиты В (HBsAg) и С (anti-HCV), ВИЧ (anti-HIV), сифилис (anti-T. pallidum). Все доноры были серонегативными.

Время холодовой ишемии составило $10,3 \pm 8,9$ (4–48) ч. Холодовая ишемия – это время от окончания эксплантации сердца и погружения последнего в охлажденную до $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ транспортировочную среду до начала процесса его стерилизации. Выделение аллогraftов осуществляли в стерильных условиях операционного блока с наличием ламинарного потока, после чего проводили его измерение. Для измерения диаметра кольца клапана использовали стандартные клапанные измерители № 19, 21, 23, 25, 27, выпускаемые заводом «Электронмаш». Наборы измерителей при измерении аллогraftов и при их имплантации были идентичны.

Стерилизацию аллогraftов осуществляли в течение 24 ч при $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ в растворе, содержащем 175,0 мл питательной среды RPMI 1640, 0,5 г цефазолина, 20,0 мл 0,5 %-ного метронидазола и 50,0 мл 0,2 %-ного флуконазола. Затем аллогraftы криоконсервировали и хранили в Республиканском банке клапанных аллогraftов на базе 9-й городской больницы г. Минска.

Нами использовался следующий состав среды для криоконсервации: 160 мл питательной среды RPMI 16401, 20 мл 10 %-ного человеческого альбумина, 20 мл диметилсульфоксида.

Криоконсервацию аортальных аллогraftов осуществляли в аппарате для криоконсервации ICE CUBE 15M фирмы SY-LAB Gerate G. m. b. H. (Austria). Температуру в камере снижали за 10 мин до того как она достигнет отметки $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ и поддерживали ее на таком уровне в течение 18 мин, а затем в течение 7 мин повышали до $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ и поддерживали ее на этом уровне в течение 5 мин. С этого момента температура в камере и температура в ткани аллогraftа снижались параллельно до температуры $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ со скоростью охлаждения $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в минуту (модификация РНПЦ «Кардиология»).

Аллогraftы хранили в парах жидкого азота при температуре $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, что обеспечивало сохранность гистологической структуры аллогraftов.

Размораживание аллогraftов проводили в течение 1 ч при температуре $8\text{--}10\text{ }^{\circ}\text{C}$ (модификация РНПЦ «Кардиология»).

В 61 (59,8 %) случае реципиентами были мужчины, в 41 (40,2 %) – женщины. Средний возраст реципиентов составил $57,2 \pm 15,05$ (24–81) года. Показаниями к имплантации были: инфекционный эндокардит аортального клапана (34 (33,3 %) пациента), протезный эндокардит (25 (24,5 %)), дисфункция протеза (7 (6,9 %)) и порок аортального клапана различной этиологии (36 (35,3 %)). Повторное хирургическое вмешательство выполнено в 32 (31,4 %) случаях. Риск операции по EUROSCORE II составил $13,7 \pm 15,9$ (0,67–81) %, медиана – 7,7 (3,8–17,2). В состоянии сердечной декомпенсации были 18 (17,65 %) пациентов, которые имели IV класс сердечной недостаточности по классификации, предложенной Нью-Йоркской кардиологической ассоциацией.

Размер используемых аллогraftов составлял от 21 до 27 мм.

Все операции выполняли через полную срединную стернотомию. Защиту миокарда осуществляли с помощью холодовой, гиперкалиевой, кровяной кардиopleгии: антеградно – через корень аорты или в устья коронарных артерий, ретроградно – через коронарный синус.

Протезирование по методике полного корня выполнено 96 (94,1 %) пациентам, у 6 (5,9 %) из них была применена субкоронарная техника имплантации. Субкоронарную технику имплантации использовали с сохранением некоронарного синуса Вальсальвы, технику замещения корня аорты как более простую и предсказуемую в подавляющем большинстве случаев применяли после получения данных о механической прочности аллогraftов и восходящего отдела аорты.

В послеоперационном периоде назначали аспирин в дозе 150 мг 1 раз в сутки. Прием аспирина был рекомендован всем пациентам пожизненно.

Эхокардиография. Функцию аллогraftа оценивали на 7–10-е сутки после операции и через 3, 6 мес., 1, 2, 3 года в отдаленном послеоперационном периоде.

ЭхоКГ на ультразвуковом аппарате Hewlett Packard 5500 (США) с датчиком 2,0/2,5 мГц проводили различные специалисты, стандартно используя трансторакальный доступ. Для оценки состояния ЛЖ исследовали следующие переменные: толщину миокарда межжелудочковой перегородки во время систолы и диастолы; толщину миокарда задней стенки ЛЖ во время систолы и диастолы; массу миокарда ЛЖ, конечно-диастолический и конечно-систолический размеры ЛЖ, конечно-диастолический и конечно-систолический объемы ЛЖ в В-режиме (Simpson).

Статистические методы исследования. Для анализа полученных данных была создана компьютерная база данных на основе программы Microsoft Office Excel 2010. Статистическую

обработку проводили с помощью программного обеспечения SPSS (версия 19.0, IBM SPSS Statistics, Чикаго, Иллинойс). Для оценки нормальности распределения использовали тест Колмогорова–Смирнова (при $p < 0,05$ распределение признака считали отличающимся от нормального). Данные исследования представлены в виде среднего значения \pm стандартного отклонения или медианы и интерквартильного размаха (25 %Q/75 %Q). Достоверность различий между параметрическими критериями оценивали с помощью непарного и парного t -теста Student или одно- и многофакторного дисперсионного анализа (ANOVA); не удовлетворяющих условиям нормального распределения или равенству дисперсий – с помощью критерия Вилкоксона–Манна–Уитни. Критическим уровнем значимости ошибки первого рода (α -ошибки) при проверке статистических гипотез принято значение 0,05 в двустороннем тесте.

Результаты и их обсуждение. Среднее время искусственного кровообращения составило $199,9 \pm 94,35$ (89–715) мин, время ишемии – $146,8 \pm 44,7$ (70–365) мин. Среднее время нахождения пациентов в отделении интенсивной терапии и в госпитале составило $2,4 \pm 3,2$ и $15,2 \pm 6,9$ сут соответственно.

Нами проанализированы следующие показатели на аллографтах различного диаметра: максимальная скорость, систолический и средний градиенты на клапане, площадь эффективного отверстия в раннем и отдаленном периоде (в течение 3 лет).

В соответствии с полученными данными ЭхоКГ систолический градиент на аортальном клапане в момент выписки составил $17,7 \pm 8,5$ мм рт. ст. для аллографтов размером 21 мм, для протезов типоразмера 23 – $14,9 \pm 6,1$, для аортальных аллографтов типоразмера 25 – $12,6 \pm 5,25$, для аллографтов типоразмера 27, имплантированных в аортальную позицию, – $11,5 \pm 4,6$ мм рт. ст. (табл. 1, 2).

Т а б л и ц а 1. Гемодинамические показатели на имплантированных аортальных аллографтах типоразмеров 21 и 23 на 10-е сутки после операции и через 3 года

Table 1. Hemodynamic parameters on the implanted aortic allografts of 21 and 23 in size for the 10th day after operation and in 3 years

Показатель	Сроки исследования					
	10 сут (n = 15)	3 года (n = 4)	p	10 сут (n = 25)	3 года (n = 4)	p
	Размер аллографта 21 мм			Размер аллографта 23 мм		
Максимальная скорость, м/с	$2,05 \pm 0,44$ (1,4–3,3)	$1,4 \pm 0,2$ (1,25–1,7)	0,011	$1,9 \pm 0,4$ (1,2–2,6)	$1,3 \pm 0,6$ (0,9–1,7)	0,03
Систолический градиент	$17,7 \pm 8,5$ (8–44)	$8,5 \pm 2,4$ (6–11)	0,015	$14,9 \pm 6,1$ (6–28)	$9,0 \pm 1,0$ (8–10)	0,02
Средний градиент	$9,35 \pm 4,5$ (5–23)	$4,25 \pm 1,0$ (3–5)	0,05	$8,6 \pm 3,4$ (3–14)	$6,7 \pm 0,6$ (6–7)	0,08
Площадь эффективного отверстия, см ²	$2,0 \pm 0,4$ (1,2–2,9)	$2,2 \pm 0,25$ (1,9–2,4)	0,5	$2,6 \pm 0,5$ (1,85–3,7)	$2,4 \pm 0,35$ (2,1–2,8)	0,859

Т а б л и ц а 2. Гемодинамические показатели на имплантированных аортальных аллографтах типоразмеров 25 и 27 на 10-е сутки после операции и через 3 года

Table 2. Hemodynamic parameters on the implanted aortic allografts of 25 and 27 in size after operation and in 3 years

Показатель	Сроки исследования					
	10 сут (n = 33)	3 года (n = 15)	p	10 сут (n = 18)	3 года (n = 3)	p
	Размер аллографта 25 мм			Размер аллографта 27 мм		
Максимальная скорость, м/с	$1,7 \pm 0,4$ (1,1–2,6)	$1,4 \pm 0,3$ (1,0–2,0)	0,033	$1,6 \pm 0,35$ (1,1–2,2)	1,1	0,028
Систолический градиент	$12,6 \pm 5,25$ (5–26)	$10,6 \pm 6,3$ (4–23)	0,115	$11,5 \pm 4,6$ (5–20)	$3,2 \pm 2,6$ (1,35–5)	0,009
Средний градиент	$7,4 \pm 3,1$ (3–14)	$5,3 \pm 2,7$ (2–10)	0,286	$6,7 \pm 1,7$ (5–10)	3	0,019
Площадь эффективного отверстия, см ²	$2,9 \pm 0,6$ (1,7–4,0)	$2,9 \pm 0,6$ (2,0–3,7)	0,845	$3,0 \pm 0,8$ (1,8–5,0)	$3,2 \pm 0,2$ (3,1–3,4)	0,792

Полученные данные свидетельствуют об удовлетворительных гемодинамических показателях имплантированных аллографтов как в раннем, так и в позднем послеоперационном периоде.

При этом площадь эффективного отверстия достоверно не изменилась ни на одном типоразмере аллографтов, что говорит об отсутствии механизма дисфункции аллографтов в виде развивающегося стеноза за исследуемый промежуток времени. При этом на типоразмерах 23, 25 и 27 аллографтов получены показатели, которые соответствуют показателям нормы на нативном аортальном клапане (2,5–3,5 см²). Так, для размера 23 аллографтов площадь эффективного отверстия колебалась от $2,6 \pm 0,5$ до $2,4 \pm 0,3$ см², для размера 25 – в диапазоне от $2,9 \pm 0,6$ до $3,0 \pm 0,65$ см², а для размера 27 – в интервале от $3,0 \pm 0,4$ до $3,3 \pm 0,6$ см². Для типоразмера 21 аортального аллографта получены показатели ниже показателей нормы на нативном клапане – от $2,0 \pm 0,4$ до $2,2 \pm 0,25$ см².

В то же время отмечалось достоверное уменьшение максимальной скорости на аортальных аллографтах исследуемых типоразмеров за исследуемый период, что в свою очередь привело к субоптимальным и оптимальным показателям систолического и среднего градиентов на аортальных аллографтах.

Так, в госпитальном периоде получены субоптимальные показатели систолического градиента на всех исследуемых типоразмерах, которые составили для 21, 23, 25 и 27 аллографтов соответственно $17,7 \pm 8,5$, $14,9 \pm 6,1$, $12,6 \pm 5,25$ и $11,5 \pm 4,6$ мм рт. ст., уменьшившиеся до показателей нормы на нативном аортальном клапане в промежутке времени от 3 мес. до 2 лет для всех типоразмеров аллографтов.

Для оценки функции ЛЖ произведена оценка конечно-диастолического и конечно-систолического размеров и объемов ЛЖ, фракции выброса (ФВ) ЛЖ (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Размеры, объемы, фракция выброса ЛЖ после имплантации аортальных аллографтов за исследуемый период наблюдения

Table 3. Sizes, volumes, left ventricle ejection fraction after aortic allograft implantation during the test observation period

Показатель	Сроки исследования						p
	10 сут	3 мес.	6 мес.	1 год	2 года	3 года	
Конечно-диастолический размер ЛЖ, мм	$54,5 \pm 7,9$ (40–77) (n = 77)	$51,8 \pm 5,9$ (37–66) (n = 66) p = 0,005	$50,7 \pm 6,2$ (36–66) (n = 59) p = 0,3	$50,3 \pm 5,7$ (38–64) (n = 61) p = 0,5	$49,8 \pm 8,5$ (14–65) (n = 38) p = 0,4	$50,7 \pm 7,9$ (37–67) (n = 25) p = 0,1	0,027 (при выписке и через 3 года)
Конечно-систолический размер ЛЖ, мм	$38,6 \pm 7,3$ (26–66) (n = 77)	$35,3 \pm 5,7$ (24–50) (n = 63) p = 0,000	$33,3 \pm 4,6$ (23–46) (n = 59) p = 0,14	$33,2 \pm 4,8$ (24–47) (n = 61) p = 0,97	$33,4 \pm 4,9$ (22–45) (n = 39) p = 0,7	$34,2 \pm 6,5$ (26–54) (n = 27) p = 0,021	0,008 (при выписке и через 3 года)
Конечно-диастолический объем ЛЖ (В-режим), мл	$145,6 \pm 43,5$ (65–263) (n = 83)	$117,2 \pm 36,7$ (60–221) (n = 71) p = 0,000	$110,5 \pm 34,9$ (61–219) (n = 63) p = 0,13	$110,1 \pm 33,9$ (50–214) (n = 61) p = 0,73	$107,8 \pm 35,9$ (53–209) (n = 40) p = 0,51	$102,4 \pm 37,6$ (32–184) (n = 27) p = 0,84	0,000 (при выписке и через 3 года)
Конечно-систолический объем ЛЖ (В-режим), мл	$69,9 \pm 30,5$ (19–189) (n = 83)	$50,5 \pm 22,3$ (19–132) (n = 71) p = 0,000	$46,1 \pm 20,9$ (21–116) (n = 63) p = 0,15	$47,7 \pm 18,9$ (15–109) (n = 61) p = 0,5	$45,05 \pm 20,9$ (15–118) (n = 40) p = 0,23	$43,2 \pm 2,4$ (12–116) (n = 27) p = 0,81	0,000 (при выписке и через 3 года)
ФВ ЛЖ, %	$52,9 \pm 9,5$ (28–76) (n = 83)	$57,1 \pm 8,5$ (29–86) (n = 71) p = 0,000	$58,9 \pm 7,95$ (37–75) (n = 63) p = 0,33	$58,2 \pm 6,8$ (41–74) (n = 61) p = 0,68	$59,15 \pm 6,8$ (44–74) (n = 40) p = 0,35	$58,5 \pm 8,15$ (37–73) (n = 27) p = 0,38	0,000 (при выписке и через 3 года)

Из полученных данных видно, что в первые 3 мес. после имплантации аллографтов в аортальную позицию достоверно наблюдается ремоделирование ЛЖ, приводящее к уменьшению конечно-диастолического и конечно-систолического размеров ЛЖ с $54,5 \pm 7,9$ до $51,8 \pm 5,9$ мм (p = 0,005) и с $38,6 \pm 7,3$ до $35,3 \pm 5,7$ мм (p = 0,000) соответственно, а также уменьшение конечно-диастолического и конечно-систолического объемов ЛЖ в В-режиме с $145,6 \pm 43,5$ до $117,2 \pm 36,7$ мл (p = 0,000)

и с $69,9 \pm 30,5$ до $50,5 \pm 22,3$ мл ($p = 0,000$) соответственно. Нормализация внутрисердечной гемодинамики после протезирования аортального клапана аллогraftом и невысокие градиенты уже в первые 3 мес. приводят к восстановлению фракции выброса ЛЖ с $52,9 \pm 9,5$ до $57,1 \pm 8,5$ % ($p = 0,000$). В последующий период наблюдения в сроки от 3 мес. до 3 лет достоверных изменений со стороны размера и объема ЛЖ не происходило (за исключением увеличения конечно-систолического размера в сроки от 2 до 3 лет – от $33,4 \pm 4,9$ до $34,2 \pm 6,5$ мм ($p = 0,021$)).

Нами также оценена толщина миокарда межжелудочковой перегородки и задней стенки ЛЖ во время систолы и диастолы (табл. 4).

Таблица 4. Толщина миокарда межжелудочковой перегородки и задней стенки ЛЖ во время систолы и диастолы после имплантации аортальных аллогraftов за период наблюдения

Table 4. Myocardium thickness of the left ventricle septum and back wall both during systole and diastole after aortic allograft implantation during the observation period

Показатель	Сроки исследования						p
	10 сут	3 мес.	6 мес.	1 год	2 года	3 года	
Толщина миокарда межжелудочковой перегородки во время систолы, мм	$15,35 \pm 2,7$ (10–22) (n = 77)	$16,1 \pm 2,4$ (9–21) (n = 60) $p = 0,1$	$17,0 \pm 2,8$ (11–25) (n = 58) $p = 0,84$	$16,3 \pm 3,0$ (7–22) (n = 59) $p = 0,19$	$16,85 \pm 3,0$ (11–24) (n = 40) $p = 0,038$	$15,8 \pm 2,6$ (10–20) (n = 26) $p = 0,485$	0,085 (при выписке и через 3 года)
Толщина миокарда межжелудочковой перегородки во время диастолы, мм	$13,45 \pm 3,0$ (9–22) (n = 77)	$13,1 \pm 2,6$ (6–20) (n = 60) $p = 0,425$	$13,2 \pm 2,3$ (8–19) (n = 59) $p = 0,76$	$12,9 \pm 2,8$ (6–19) (n = 57) $p = 0,05$	$12,75 \pm 2,4$ (8–18) (n = 36) $p = 0,25$	$11,8 \pm 1,6$ (8–15) (n = 25) $p = 0,01$	0,028 (при выписке и через 3 года)
Толщина миокарда задней стенки ЛЖ во время систолы, мм	$16,6 \pm 2,8$ (11–22) (n = 77)	$15,4 \pm 2,5$ (8–23) (n = 60) $p = 0,012$	$15,4 \pm 2,3$ (7–21) (n = 58) $p = 0,5$	$15,2 \pm 2,2$ (8–20) (n = 59) $p = 0,92$	$15,1 \pm 2,4$ (10–20) (n = 40) $p = 0,49$	$14,7 \pm 1,8$ (10–18) (n = 26) $p = 1,0$	0,006 (при выписке и через 3 года)
Толщина миокарда задней стенки ЛЖ во время диастолы, мм	$12,1 \pm 2,0$ (8–18) (n = 76)	$11,4 \pm 1,6$ (8–16) (n = 60) $p = 0,004$	$11,6 \pm 1,4$ (8–14) (n = 58) $p = 0,65$	$11,3 \pm 1,5$ (8–16) (n = 59) $p = 0,48$	$11,6 \pm 1,8$ (8–16) (n = 40) $p = 0,032$	$11,3 \pm 1,15$ (9–14) (n = 26) $p = 0,165$	0,517 (при выписке и через 3 года)
Масса миокарда ЛЖ, г	$336,2 \pm 123$ (132–653) (n = 24)	$263,2 \pm 85,4$ (113–450) (n = 37) $p = 0,187$	$259,05 \pm 68,1$ (105–491) (n = 41) $p = 0,38$	$239,45 \pm 68,6$ (95–376) (n = 44) $p = 0,053$	$241,5 \pm 86,3$ (94–398) (n = 30) $p = 0,41$	$224,7 \pm 119,3$ (83–513) (n = 9) $p = 0,78$	0,108 (при выписке и через 3 года)

Из полученных данных видно, что толщина миокарда межжелудочковой перегородки во время систолы достоверно не изменилась за 3 года после операции ($p = 0,085$), хотя в период времени от 1 до 2 лет отмечалось достоверное увеличение толщины миокарда межжелудочковой перегородки. В то же время за 3 года наблюдалось достоверное уменьшение толщины миокарда межжелудочковой перегородки во время диастолы с $13,45 \pm 3,0$ до $11,8 \pm 1,6$ мм ($p = 0,028$). Причем данная тенденция была достоверно достигнута в сроки от 6 мес. до 1 года и от 2 до 3 лет.

Возможно, ремоделирование ЛЖ в виде уменьшения его размера и объема в первые 3 мес. после выписки происходило за счет задней стенки, так как в этот период достоверно изменялась толщина миокарда задней стенки ЛЖ как во время систолы, так и во время диастолы ($p = 0,012$ и $p = 0,004$ соответственно). Толщина миокарда задней стенки ЛЖ во время систолы за 3 года достоверно уменьшилась с $16,6 \pm 2,8$ до $14,7 \pm 1,8$ мм ($p = 0,006$). Толщина миокарда задней стенки ЛЖ во время диастолы за весь исследуемый период достоверно не уменьшилась ($p = 0,517$), хотя произошло уменьшение с $12,1 \pm 2,0$ до $11,3 \pm 1,15$ мм. Достоверное изменение толщины миокарда задней стенки ЛЖ во время диастолы отмечалось в промежутки времени от 1 до 2 лет ($p = 0,032$ соответственно).

Общая масса миокарда ЛЖ в исследуемой группе уменьшилась за 3 года с $336,2 \pm 123$ до $224,7 \pm 119,3$ г, хотя разница была статистически не достоверна ($p = 0,108$).

Для оценки влияния ремоделирования ЛЖ после проведенного оперативного лечения проведена оценка качества жизни пациентов за исследуемый период с использованием опросника Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire (MLHFQ) (табл. 5).

Таблица 5. Оценка качества жизни пациентов с имплантированными аллографтами с использованием опросника Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire (MLHFQ)

Table 5. Assessment of the life quality of patients with implanted allografts with the use of the questionnaire Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire (MLHFQ)

Показатель	Сроки исследования						p
	10 сут	3 мес.	6 мес.	1 год	2 года	3 года	
MLHFQ, балл	38,6 ± 16 (14–69) (n = 19)	15,8 ± 12,6 (0–50) (n = 44) p = 0,000	13,6 ± 13,1 (0–58) (n = 47) p = 0,27	11,5 ± 13,35 (0–60) (n = 52) p = 0,23	10,8 ± 10,0 (0–33) (n = 31) p = 0,67	8,45 ± 10,5 (0–42) (n = 20) p = 0,64	0,000 (при выписке и через 3 года)

Из полученных данных видно, что качество жизни пациентов, оцененное с помощью опросника MLHFQЮ, после имплантации аортальных аллографтов достоверно улучшалось в первые 3 мес. после выписки из стационара. В дальнейшем отмечалось также улучшение качества жизни, однако достоверной разницы получено не было.

Выводы

1. Использование аллографтов в аортальной позиции позволяет в значительной степени приблизиться к параметрам функционирования нативного клапана как в раннем, так и в отдаленном (3 года) периоде.

2. Площадь эффективного отверстия для типоразмеров 23, 25 и 27 аллографтов находится в пределах показателей нормы для нативного аортального клапана (2,5–3,5 см²), а для типоразмера 21 получены показатели ниже показателей нормы на нативном клапане в диапазоне от 2,0 ± 0,4 до 2,2 ± 0,25 см².

3. Площадь эффективного отверстия достоверно не изменяется в течение всего периода наблюдения (3 года) для всех типоразмеров аллографтов.

4. В раннем послеоперационном периоде на всех типоразмерах имплантируемых аллографтов получены субоптимальные показатели систолического градиента, которые составили соответственно 17,7 ± 8,5; 14,9 ± 6,1; 12,6 ± 5,25 и 11,5 ± 4,6 мм рт. ст., уменьшившись до показателей нормы (10 мм рт. ст.) для нативного аортального клапана, в промежутке времени от 3 мес. до 2 лет.

В первые 3 мес. после имплантации аллографта происходит ремоделирование ЛЖ, приводящее к уменьшению конечно-диастолического и конечно-систолического размеров и объемов ЛЖ, а также к увеличению его сократительной способности.

5. Качество жизни пациентов после проведенной операции имплантации аортального аллографта достоверно улучшается в первые 3 мес.

Список использованных источников

1. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham heart study / D. Levy [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1990. – Vol. 322. – P. 1561–1566.
2. Left ventricular myocardial structure in aortic valve disease before, intermediate, and late after aortic valve replacement / H. P. Krayenbuehl [et al.] // *Circulation.* – 1989. – Vol. 79. – P. 744–755.
3. Lund, O. Late cardiac deaths after isolated valve replacement for aortic stenosis. Relation to impaired left ventricular diastolic performance / O. Lund, F. T. Jensen // *Angiology.* – 1989. – Vol. 40. – P. 199–208.
4. Left ventricular mass regression after aortic valve replacement measured by ultrafast computed tomography / P. B. Kurnik [et al.] // *Am. Heart J.* – 1990. – Vol. 120. – P. 919–927.
5. Stentless aortic valves are hemodynamically superior to stented valves during mid-term follow up: a large retrospective study / M. A. Borger [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* – 2005. – Vol. 80, N 6. – P. 2180–2185.
6. The stentless freestyle bioprosthesis: impact of age over 80 years on quality of life, perioperative, and mid-term outcome / J. Ennker [et al.] // *J. Card. Surg.* – 2006. – Vol. 21, N 4. – P. 379–385.

References

1. Levy D., Garrison R. J., Savage D. D., Kannel W. B., Castelli W. P. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham heart study. *The New England Journal of Medicine*, 1990, vol. 322, pp. 1561–1566.

2. Krayenbuehl H. P., Hess O. M., Monrad E. S., Schneider J., Mall G., Turina M. Left ventricular myocardial structure in aortic valve disease before, intermediate e, and late after aortic valve replacement. *Circulation*, 1989, vol. 79, pp. 744–755.
3. Lund O., Jensen F. T. Late cardiac deaths after isolated valve replacement for aortic stenosis. Relation to impaired left ventricular diastolic performance. *Angiology*, 1989, vol. 40, pp. 199–208.
4. Kurnik P. B., Innerfield M., Wachspress J. D., Eldredge W. J., Waxman H. L. Left ventricular mass regression after aortic valve replacement measured by ultrafast computed tomography. *American Heart Journal*, 1990, vol. 120, pp. 919–927. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0002-8703\(90\)90211-F](http://dx.doi.org/10.1016/0002-8703(90)90211-F).
5. Borger M. A., Carson S. M., Ivanov J., Rao V., Scully H. E., Feindel C. M., David T. E. Stentless aortic valves are hemodynamically superior to stented valves during mid-term follow up: a large retrospective study. *Annals Thoracic Surgery*, 2005, vol. 80, no. 6, pp. 2180–2185.
6. Ennker J., Dalladaku F., Rosendahl U., Ennker I. C., Mauser M., Florath I. The stentless freestyle bioprosthesis: impact of age over 80 years on quality of life, perioperative, and mid-term outcome. *Journal Cardiac Surgery*, 2006, vol. 21, no. 4, pp. 379–385. doi:10.1111/j.1540-8191.2006.00249.x.

Информация об авторе

Спиридонов Сергей Викторович – канд. мед. наук, кардиохирург. Республиканский научно-практический центр «Кардиология» (ул. Р. Люксембург, 110В, 220036, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dr.spiridonov79@gmail.com.

Information about the author

Sergey V. Spiridonov – Ph. D. (Med.), cardiothoracic surgeon. Republican Scientific and Practical Center “Cardiology”, Minsk, Republic of Belarus (110B, R. Luxemburg Str., 220036, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dr.spiridonov79@gmail.com.

В. И. Стельмашок*Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Республика Беларусь***ВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ УСПЕШНОЙ РЕКАНАЛИЗАЦИИ
ХРОНИЧЕСКИХ ТОТАЛЬНЫХ ОККЛЮЗИЙ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ
АНТЕГРАДНЫМ ДОСТУПОМ И РИСКА РАЗВИТИЯ
КАРДИАЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ**

Аннотация. Изучены временные тенденции успешной реканализации хронических тотальных окклюзий (ХТО) коронарных артерий антеградным доступом и риска развития кардиальных осложнений.

С 2009 по 2013 г. попытка реканализации ХТО коронарных артерий антеградным доступом была предпринята у 217 пациентов. Обследуемые были разделены на две группы: группа 1 ($n = 158$) – успешно выполненная реканализация, группа 2 ($n = 59$) – неуспешная реканализация.

К концу периода наблюдения увеличилось число пациентов с более сложным клиническим профилем и комплексной рентгеноморфологией окклюзионного поражения, наряду с этим отмечалась тенденция к увеличению количества успешно выполненных реканализаций ХТО. Наблюдаемые в указанный период тенденции к увеличению случаев успешной реканализации и удачного проведения коронарного проводника обусловлены изменением стратегии реканализации, а именно изменением принципа выбора коронарного проводника, характера и последовательности его использования.

Частота кардиальных осложнений оставалась стабильной на протяжении всего периода наблюдения и варьировалась от 11,3 % в 2012 г. до 36,6 % в 2011 г. «Больших осложнений» (летального исхода, острого инфаркта миокарда, потребности в выполнении экстренной операции коронарного шунтирования), развития тампонады сердца и потребности в выполнении дренирования перикарда не отмечалось.

По мере накопления опыта попытка реканализации ХТО коронарных артерий предпринималась у пациентов с более сложными формами поражения. При этом прослеживалась тенденция к увеличению случаев успешного вмешательства, без изменения риска развития кардиальных осложнений.

Ключевые слова: хронические тотальные окклюзии, коронарные артерии, антеградный доступ, временные тенденции, успех реканализации, кардиальные осложнения

Для цитирования: Стельмашок, В. И. Временные тенденции успешной реканализации хронических тотальных окклюзий коронарных артерий антеградным доступом и риска развития кардиальных осложнений / В. И. Стельмашок // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 3. – С. 72–81.

V. I. Stelmashok*Republican Scientific and Practical Center "Cardiology", Minsk, Republic of Belarus***TEMPORARY TRENDS OF SUCCESS RATE AND CARDIAC COMPLICATION RISK
IN CHRONIC TOTAL OCCLUSION RECANALIZATION BY THE ANTEGRADE APPROACH**

Abstract. Temporary trends of success rate and cardiac complication risk in chronic total occlusion (CTO) recanalization by the antegrade approach are studied.

From 2009 to 2013, the attempt of coronary artery CTO recanalization by the antegrade approach was undertaken for 217 patients. Depending on the success of CTO recanalization, patients were divided into 2 groups: group 1 ($n = 158$) – successful procedure, group 2 ($n = 59$) – unsuccessful attempt of CTO recanalization.

By the end of the observation period, the number of patients with more difficult clinical profile and a complex CTO morphology increased, but the CTO recanalization success rate frequency also had a positive tendency. Observed tendencies to increase a general success recanalization rate and the success of CTO recanalization by coronary wire were caused by changes in the recanalization strategy which occurred during the time from 2009 to 2013, including the change of the coronary wire principle of choice, character and sequence of its use.

The frequency of a cardiac complication rate remained stable throughout the entire period of observation and varied from 11.3 % in 2012 to 36.6 % in 2011. «Major complications» (death, acute myocardial infarction, emergency coronary artery bypass grafting), the development of cardiac tamponade and pericardium drainage cases were not seen in the current study.

In the process of operators experience accumulation, an attempt of CTO recanalization was made in more difficult patients; at the same time, the positive tendency to recanalization success was observed, without any noticeable changes in risk of cardiac complications.

Keywords: chronic total occlusions, coronary arteries, antegrade approach, temporary trends, recanalization success, cardiac complications

For citation: Stelmashok V. I. Temporary trends of success rate and cardiac complication risk in chronic total occlusion recanalization by the antegrade approach. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 72–81 (in Russian).

Введение. Несмотря на достижение определенного прогресса в лечении хронических тотальных окклюзий (ХТО) коронарных артерий, данный тип поражений с технической точки зрения по-прежнему остается самым сложным для проведения лечебных рентгенэндоваскулярных вмешательств [1–3]. Наличие ХТО нередко служит основанием для направления пациентов на операцию коронарного шунтирования [4], а также является предиктором неполноценной реваскуляризации [5]. В отличие от неокклюзионных поражений, выполнение чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) в зоне ХТО ассоциируется с меньшей частотой успешности данной процедуры и с более частым развитием осложнений [6–8].

Обозначенные выше особенности актуализируют поиск предикторов для эффективного и безопасного выполнения ЧКВ в зоне данного типа поражений коронарных артерий. В настоящее время в мировой литературе имеется множество данных о влиянии рентгенморфологии хронических окклюзий на эффективность/безопасность реканализации ХТО рентгенэндоваскулярными методами [9]. С другой стороны, исключительно рентгенморфологические характеристики окклюзионного поражения не всегда точно позволяют спрогнозировать успех/неуспех ЧКВ [10], что предполагает существование других весомых факторов, влияющих на данные показатели.

По нашему мнению, к числу таких дополнительных факторов могут быть отнесены опыт и обученность операторов, выполняющих реканализацию ХТО коронарных артерий. Вместе с тем следует отметить, что сведения, содержащиеся в доступных литературных источниках [7, 11–14] по данному вопросу, противоречивы и не дают объективной картины. Таким образом, в связи с нерешенностью обозначенной проблемы нам представляется актуальным проведение исследований в указанном направлении.

Цель исследования – изучить временные тенденции успешности реканализации хронических тотальных окклюзий коронарных артерий антеградным доступом и риска развития кардиальных осложнений.

Материалы и методы исследования. За период времени с начала внедрения целенаправленного алгоритма работы с ХТО (2009 г.) и по 2013 г. в ГУ «РНПЦ «Кардиология» попытка проведения реканализации ХТО коронарных артерий антеградным доступом была выполнена у 217 пациентов, которые страдали ишемической болезнью сердца и имели стабильную стенокардию различных функциональных классов и/или безболевою ишемию миокарда.

Критериями включения пациентов в исследование являлись следующие:

1) наличие стенокардии и/или безболевой ишемии миокарда; 2) наличие окклюзирования (антеградный кровоток TIMI 0) коронарного сосуда диаметром ≥ 2 мм, определяемое по данным ранее выполненного ангиографического исследования, с ангиографически верифицированной или клинически предполагаемой продолжительностью окклюзии 3 мес. и более [15, 16]; 3) готовность пациента соблюдать требования исследования и последующие медицинские предписания, наличие письменного согласия пациента.

Критериями исключения были: отказ пациента от участия в исследовании, возраст менее 20 лет, верифицированная беременность, наличие хронической болезни почек (скорость клубочковой фильтрации менее 30 мл/мин/1,73 м²).

Реканализацию ХТО коронарных артерий у всех включенных в исследование пациентов выполняли антеградным доступом на ангиографических установках Innova 3100 и Innova 2000 (General Electric, США). В качестве методов антеградной реканализации наиболее часто использовали метод транслюминального проведения одного проводника, при необходимости – метод параллельных проводников, метод STAR, а также проведение проводника под контролем внутри-

сосудистого ультразвука (IVUS-guided technique). В соответствии с характеристиками, представляемыми компаниями-изготовителями в технической документации, в зависимости от усилия изгиба дистального кончика (tip load) выделяли мягкие проводники (усилие изгиба не превышает 1 г), проводники средней жесткости (усилие изгиба более 1 г, но менее 6 г) и жесткие проводники (усилие изгиба 6 г и более).

Реканализация ХТО коронарным проводником нами расценивалась как успешная при наличии убедительных признаков нахождения дистальной части проводника в истинном просвете сосуда дистальнее зоны окклюзии. В тех случаях, когда дистальная часть проводника попадала в субинтимальное пространство, а также когда многочисленные повторные попытки прохождения сквозь толщу окклюзионной ткани при помощи вышеописанных методик были безуспешными, процедуру реканализации прекращали. В данном случае попытка реканализации ХТО коронарной артерии проводником нами расценивалась как неуспешная.

После проведения успешной реканализации ХТО проводником выполняли эндоваскулярную баллонную дилатацию и стентирование пораженной коронарной артерии по стандартным методикам.

Статистический анализ полученных данных осуществляли при помощи компьютерного пакета программ STATISTICA (StatSoft Inc., США, версия 6.5). Для подтверждения гипотезы о наличии различий между независимыми выборками использовали однофакторный дисперсионный анализ (при нормальном распределении величин) либо тест Крускала–Уоллиса (в случае несоответствия распределения изучаемых величин нормальному закону). Если нулевая гипотеза в ходе указанных тестов отклонялась, изучаемые выборки сопоставляли между собой методом множественных сравнений с использованием параметрического теста Ньюмена–Кейлса либо непараметрического критерия Дана.

При анализе качественных признаков на первом этапе статистической обработки изучаемые данные объединяли в таблицы сопряженности (кросстабуляции), после чего рассчитывали критерий χ^2 . Последующие множественные сравнения выполняли по методу Бенъямини–Хохберга [17], нулевая гипотеза отклонялась при p (q -значении) $\leq 0,05$.

Нормально распределяющиеся количественные показатели представлены как среднее арифметическое \pm стандартное отклонение ($M \pm \sigma$), непараметрические количественные величины, а также порядковые величины – как медиана (Me ($Q1$; $Q3$), где $Q1$ – верхняя граница первого квартиля выборки, $Q3$ – верхняя граница третьего квартиля выборки). При описании качественных величин приведены их абсолютные значения, а также указаны доли в процентах (n (%)).

Результаты и их обсуждение. Все пациенты ($n = 217$), в зависимости от года включения в исследование, были разделены на 5 групп: группа 1 (2009 г.) – 27 чел., группа 2 (2010 г.) – 60, группа 3 (2011 г.) – 41, группа 4 (2012 г.) – 53, группа 5 (2013 г.) – 36 чел. Основные клинические характеристики пациентов приведены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, пациенты всех групп были сопоставимы по основным клиническим характеристикам, за исключением лиц, страдающих артериальной гипертензией и ранее куривших, которые достоверно реже ($p < 0,05$) регистрировались в течение первых 2 лет с момента старта программы рентгенэндоваскулярного лечения ХТО. При этом по сравнению с каждым предыдущим годом наблюдалась тенденция к увеличению количества пациентов с ЧКВ в анамнезе (достоверные различия между группами 2 и 5, $p < 0,05$), а также лиц, которым ранее предпринимались попытки реканализации ХТО ($p < 0,05$ между группами 1–4 и группой 5). Полагаем, что тенденция к росту числа пациентов, которым повторно проводились попытки реканализации ХТО (от 0 % в 2009 г. до 27,8 % в 2013 г.), может объясняться накоплением опыта операторами, что позволило приступать к выполнению операций в более сложных клинических ситуациях.

Таким образом, к концу 5-летнего периода после старта программы рентгенэндоваскулярного лечения ХТО коронарных артерий отмечалось увеличение количества пациентов с клинически более сложными поражениями, которым проводились данные операции.

Рентгенанатомические особенности окклюзионного поражения, характеристика коллатерального кровотока, а также предполагаемая сложность окклюзионного поражения для проведения процедуры проводниковой реканализации (ПР) приведены в табл. 2.

Т а б л и ц а 1. Характеристика включенных в исследование пациентов

Table 1. Characteristics included in the checkup of patients

Показатель	Группа 1 (n = 27)	Группа 2 (n = 60)	Группа 3 (n = 41)	Группа 4 (n = 53)	Группа 5 (n = 36)
Мужской пол, n (%)	22 (81,5)	50 (83,3)	35 (85,4)	50 (94,3)	32 (88,9)
Возраст (лет), M ± σ	56,3 ± 9,0	55,3 ± 9,1	55,8 ± 9,0	59,3 ± 8,2	58,7 ± 8,6
Индекс массы тела, M ± σ	31,2 ± 4,3	29,5 ± 3,7	29,9 ± 3,7	29,2 ± 3,2	28,9 ± 3,9
Текущие курильщики, n (%)	9 (33,3)	20 (33,3)	13 (31,7)	14 (26,4)	9 (25,0)
Ранее курившие, n (%)	2 (7,4) [^]	6 (10,0) [†]	11 (26,8)	24 (45,3) ^{^^}	10 (27,8)
Сахарный диабет, n (%)	6 (22,2)	7 (11,7)	8 (19,5)	6 (11,3)	2 (5,6)
Артериальная гипертензия, n (%)	20 (74,1) ^{#^}	48 (80,0) [†]	39 (95,1) [#]	52 (98,1) ^{^^}	33 (91,7)
Инфаркт миокарда в анамнезе, n (%)	21 (77,8)	44 (73,3)	31 (75,6)	40 (75,5)	31 (86,1)
Клиника стенокардии, n (%)	26 (96,3)	58 (96,7)	40 (97,6)	50 (94,3)	36 (100)
Функциональный класс стенокардии, Me (Q1; Q3)	3,0 (2,0; 3,0)	3,0 (2,0; 3,0)	3,0 (2,0; 3,0)	2,0 (2,0; 3,0)	2,0 (2,0; 3,0)
ЧКВ в анамнезе, n (%)	2 (7,4)	8 (13,3) [*]	10 (24,4)	11 (20,8)	13 (36,1) [*]
Попытка ЧКВ ХТО в анамнезе, n (%)	0 (0) [‡]	2 (3,3) [*]	1 (2,4) [§]	3 (5,7) [°]	10 (27,8) ^{‡*§°}
Коронарное шунтирование в анамнезе, n (%)	3 (11,1)	3 (5,0)	6 (14,6)	3 (5,7)	4 (11,1)
Многососудистое поражение коронарных артерий, n (%)	4 (14,8) [□]	27 (45,0) ^{□†}	14 (34,1)	9 (17,0) [†]	10 (27,8)

Примечание. Достоверность различий (p < 0,05) между группами: □ – 1 и 2; # – 1 и 3; ^ – 1 и 4; † – 1 и 5; ‡ – 2 и 4; * – 2 и 5; § – 3 и 5; ° – 4 и 5.

Т а б л и ц а 2. Характеристика окклюзионных поражений

Table 2. Characteristic of chronic occlusions

Показатель	Группа 1 (n = 27)	Группа 2 (n = 60)	Группа 3 (n = 41)	Группа 4 (n = 53)	Группа 5 (n = 36)
Локализация ХТО:					
ПМЖВ, n (%)	9 (33,3)	25 (41,7)	17 (41,5)	17 (32,1)	13 (36,1)
ОВ, n (%)	5 (18,5)	12 (20,0)	6 (14,6)	13 (24,5)	8 (22,2)
ПКА, n (%)	13 (48,2)	23 (38,3)	18 (43,9)	23 (43,4)	14 (38,9)
Венозный шунт, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2,8)
Внутристентовая окклюзия, n (%)	0 (0)	1 (1,7)	2 (4,9)	3 (5,7)	1 (2,8)
Функциональные ХТО, n (%)	6 (22,2)	7 (11,7) [*]	6 (14,6)	8 (15,1)	13 (36,1) [*]
Предполагаемый возраст ХТО (мес.), Me (Q1; Q3)	7,0 (6,0; 12,0)	9,5 (5,5; 14,5)	9,0 (5,0; 20,0)	12,0 (5,0; 24,0)	12,0 (6,0; 23,5)
Возраст ХТО:					
подтвержденный ангиографически, n (%)	5 (18,5)	6 (10,0) [*]	9 (22,0)	15 (28,4)	12 (33,3) [*]
подтвержденный клинически, n (%)	15 (55,6)	30 (50,0)	18 (43,9)	19 (35,8)	16 (44,5)
неопределенный, n (%)	7 (25,9)	24 (40,0)	14 (34,1)	19 (35,8)	8 (22,2)
Морфология культи ХТО:					
зауженная центральная, n (%)	16 (59,3)	37 (61,7)	21 (51,2)	22 (41,5)	14 (38,9)
зауженная эксцентричная, n (%)	3 (11,1)	3 (5,0)	8 (19,5)	2 (3,8)	0 (0)
плоская форма, n (%)	8 (29,6) [‡]	20 (33,3) ^{†*}	12 (29,3) ^{°§}	29 (54,7) ^{†°}	22 (61,1) ^{‡*§}
Наличие боковых ветвей в зоне проксимальной капсулы ХТО, n (%)	21 (77,8)	33 (55,0)	31 (75,6)	36 (67,9)	29 (80,6)
К-во боковых ветвей в зоне проксимальной капсулы ХТО, Me (Q1; Q3)	1,0 (1,0; 1,0)	1,0 (0; 1,0)	1,0 (1,0; 1,0)	1,0 (0; 1,0)	1,0 (1,0; 2,0)
Наличие боковых ветвей толще ХТО, n (%)	1 (3,7)	5 (8,3)	2 (4,9)	3 (5,7)	3 (8,3)
К-во боковых ветвей толще ХТО, Me (Q1; Q3)	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)
Наличие бифуркации в зоне окончания ХТО, n (%)	9 (33,3)	21 (35,0)	15 (36,6)	30 (56,6)	15 (41,7)
Окклюзия от устья, n (%)	1 (3,7)	0 (0)	1 (2,4)	0 (0)	0 (0)
Протяженность ХТО (мм), Me (Q1; Q3)	10,6 (5,0; 16,2)	9,8 (6,1; 17,1)	15,2 (7,6; 21,7)	13,5 (7,8; 21,6)	9,4 (6,2; 17,7)
Извитость сосуда проксимальнее ХТО ≥ 90°, n (%)	2 (7,4)	3 (5,0)	0 (0)	1 (1,9)	1 (2,8)

Показатель	Группа 1 (n = 27)	Группа 2 (n = 60)	Группа 3 (n = 41)	Группа 4 (n = 53)	Группа 5 (n = 36)
Извитость сосуда в зоне ХТО $\geq 90^\circ$, n (%)	2 (7,4)	3 (5,0)	2 (4,9)	2 (3,8)	2 (5,6)
Характеристика коллатерального кровотока:					
ипсилатеральное (омококоронарное) заполнение, n (%)	7 (26,0)	11 (18,3)	8 (19,5)	8 (15,1)	13 (36,1)
контрлатеральное заполнение, n (%)	10 (37,0)	19 (31,7)	14 (34,1)	19 (35,8)	6 (16,7)
ипсилатеральное + контрлатеральное заполнение, n (%)	10 (37,0)	30 (50,0)	19 (46,4)	26 (49,1)	17 (47,2)
Коллатеральный кровоток по Rentrop, Me (Q1; Q3)	3,0 (2,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)
Наличие мостовидных коллатералей, n (%)	10 (37,0)	22 (36,7)	12 (29,3)	13 (24,5)	10 (27,8)
Кальциноз проксимальнее зоны ХТО, n (%)	2 (7,4)	6 (10,0)	3 (7,3)	14 (26,4)	7 (19,4)
Кальциноз в зоне ХТО, n (%)	4 (14,8)	8 (13,3)	8 (19,5)	18 (34,0)	10 (27,8)
Кальциноз дистальнее зоны ХТО, n (%)	2 (7,4)	4 (5,0)	4 (9,8)	9 (17,0)	4 (11,1)
Предполагаемый уровень сложности реканализации ХТО [18], Me (Q1; Q3)	2,0 (2,0; 3,0) [^]	2,0 (2,0; 3,0) ^{***}	2,0 (2,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0) ^{^^}	3,0 (2,0; 3,0) [*]
Предполагаемая степень сложности прохождения ХТО коронарным проводником (по шкале J-СТО) [9], Me (Q1; Q3)	1,0 (0; 1,0) [§]	1,0 (0; 1,0) ^{**}	1,0 (0; 1,0)	1,0 (0; 2,0)	1,0 (1,0; 2,0) ^{***}

Примечание. ПМЖВ – передняя межжелудочковая ветвь левой коронарной артерии, ОВ – огибающая ветвь левой коронарной артерии, ПКА – правая коронарная артерия. Достоверность различий между группами: [^] – 1 и 4 ($p < 0,05$); [§] – 1 и 5 ($p < 0,05$); [†] – 2 и 4 ($p < 0,05$); ^{*} – 2 и 5 ($p < 0,05$); [°] – 3 и 4 ($p < 0,05$); [§] – 3 и 5 ($p < 0,05$); ^{^^} – 2 и 4 ($p < 0,01$); ^{**} – 2 и 5 ($p < 0,01$).

Из табл. 2 следует, что на начальном этапе работы (2009–2010 гг., группы 1, 2) для ХТО характерной являлась менее сложная рентгеноморфология поражений, чем на завершающем этапе исследования (2012–2013 гг., группы 4, 5). Данный факт подтверждается достоверным увеличением в группах 4, 5 числа пациентов с плоской формой культи окклюзии (61,1 % в группе 5 и 54,7 % в группе 4 vs 29,6 % в группе 1, 33,3 % в группе 2 и 29,3 % в группе 3, $p < 0,05$ при сравнении групп 1, 3 с группами 4, 5), являющейся одним из предикторов неуспеха ПР [9]. Помимо этого, в группах 4, 5 достоверно выше были как уровень сложности реканализации окклюзии ($p < 0,05$ в сравнении с группами 1,2), так и рассчитываемая по шкале J-СТО предполагаемая степень сложности прохождения ХТО коронарным проводником ($p < 0,01$ в сравнении с группами 1, 2). В то же время достоверных различий между показателями, описывающими состояние коллатерального кровотока, между пациентами изучаемых групп не выявлено ($p > 0,05$).

Таким образом, к концу 5-летнего периода с момента старта программы рентгенэндоваскулярного лечения ХТО отмечается увеличение сложности рентгеноморфологии хронических окклюзионных поражений коронарных артерий, которые подвергались реканализации рентгенэндоваскулярными методами.

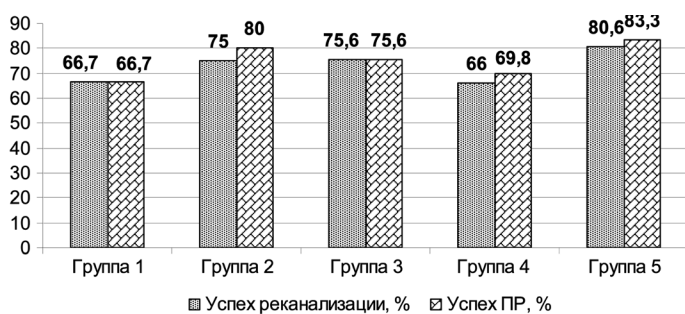


Рис. 1. Динамика изменения успешности процедуры реканализации ХТО за период времени с 2009 по 2013 г.

Fig. 1. Dynamics of changes in the procedure of recanalization success of chronic total occlusions from 2009 to 2013

На рис. 1 отражена динамика успешности реканализации ХТО в целом, а также успешности проведения коронарного проводника сквозь толщу окклюзионного поражения в течение 5-летнего периода с момента старта программы рентгенэндоваскулярного лечения ХТО. Как видно на рис. 1, в течение указанного периода наблюдения характерными являются тенденции как к увеличению процента успешно реканализированных ХТО (от 66,7 % в 2009 г. до 80,6 % в 2013 г., $p > 0,05$), так и к увеличению числа случаев успешного

проведения коронарного проводника сквозь толщу ХТО (от 66,7 % в 2009 г. до 83,3 % в 2013 г., $p > 0,05$).

Таким образом, к концу 5-летнего периода после старта программы рентгенэндоваскулярного лечения ХТО, несмотря на увеличение количества пациентов с клинически более сложными поражениями, а также на повышение сложности рентгенморфологии окклюзионных поражений, наблюдается тенденция к увеличению случаев успешной реканализации в целом, а также успешности проведения коронарного проводника при хроническом окклюзионном поражении.

В доступных нам литературных источниках содержатся противоречивые сведения о временных тенденциях успешности реканализации ХТО. Так, по данным Mayo Clinic [19], случаи успешной реканализации ХТО в 1979–1989 гг. составили 54 %, увеличившись до 76 % во временном периоде с 1990 по 1996 г., после чего данный показатель в течение последующих двух временных отрезков (1997–2003 гг. и 2003–2005 гг.) достоверно не менялся и составлял 75 и 74 % соответственно. В другой работе, выполненной С. Thompson с соавт. [11], рост частоты успешно выполняемой реканализации ХТО за оцениваемый период наблюдения (2005–2008 гг.) был отмечен только у операторов, владеющих ретроградными способами. С этим согласуются результаты исследования [12], в котором рост успешности данной процедуры (от 78,4 % в 2006 г. до 96,8 % в 2011 г.) также был обусловлен увеличением удельного веса выполнения реканализации ХТО ретроградным доступом (от 26,9 % в 2006 г. до 48,8 % в 2011 г.).

Альтернативные данные получены и в работах [13, 14]. Wang Kuang-Te с соавт. [13] продемонстрировали рост успеха реканализации ХТО за период времени с 2006 г. по 2009 г. (от 60 до 94,7 %, $p = 0,02$), исключительно применяя антеградные способы реканализации. В исследовании, выполненном Bijuklic K. с соавт. [14], успех реканализации ХТО антеградным доступом в течение 5-летнего периода наблюдения (2008–2012 гг.) увеличился от 53,2 % (1-я четверть периода) до 78 % (4-я четверть периода). Примечательно, что в работе [14] средняя частота использования ретроградных способов составила 18 % и достоверно не менялась в течение обозначенных временных кватрилей.

Полученные нами данные полностью согласуются с результатами, приведенными в работах [13, 14]. Принимая во внимание тот факт, что в течение анализируемого временного периода (2009–2013 гг.) реканализация ХТО ретроградным доступом выполнялась в нашем Центре крайне редко, следует полагать, что описанный выше рост процедурного успеха обусловлен другими факторами.

Полагаем, что объяснением данного факта является изменение стратегии реканализации, в первую очередь этапа ПР, произошедшее за период времени с 2009 по 2013 г. Так, в течение анализируемого периода времени (табл. 3) наблюдались тенденция к увеличению количества используемых в процессе выполнения реканализации коронарных проводников (от $1,48 \pm 0,70$ шт. в 2009 г. до $1,78 \pm 0,93$ шт. в 2013 г., $p > 0,05$ при межгрупповом сравнении) и тенденция к более частому использованию технического приема реканализации, предполагающего повышение жесткости последующего коронарного проводника (от 18,5 % в 2009 г. до 47,2 % в 2013 г., $p > 0,05$). Данные факты наряду с более высокой частотой выполнения поддержки и ужесточения коронарного проводника при помощи коронарных баллонных катетеров и/или специализированных микрокатетеров (22,2 % в группе 1 vs 55,6 % в группе 5, $p < 0,05$) свидетельствуют о более агрессивных способах ПР, использовавшихся в последние годы исследования. В то же время на протяжении всего периода наблюдения достоверно не менялась частота применения билатерального контрастирования, которая варьировалась от 33,3 % в группе 1 до 58,5 % в группе 3 ($p > 0,05$ при межгрупповом сравнении).

Изучение структуры используемых коронарных проводников показало, что в первый год работы с ХТО доминировало использование жесткого проводника без зауженного кончика (ЖБЗК) (75 % от общего количества), на 2-м месте по частоте применения был мягкий проводник без зауженного кончика (МБЗК) (15 %), реже использовался средней жесткости проводник без зауженного кончика (СБЗК) (10 %). С течением времени отмечалось достоверное уменьшение удельного веса ЖБЗК (с 75 % от общего количества в группе 1 до 15,6 % в группе 5, $p < 0,05$), а также тенденция к уменьшению частоты использования МБЗК (табл. 3). Одновременно с описанным выше достоверно увеличивалось количество применяемых мягких проводников с полимерным покрытием,

с зауженным кончиком (МЗК) (от 0 % в группе 1 до 31,3 % в группе 5, $p < 0,05$) и жестких проводников с полимерным покрытием, с зауженным кончиком (ЖЗК) (от 0 % в группе 1 до 20,3 % в группе 5, $p < 0,05$). Что касается СБЗК, удельный вес их использования возрастал с 2009 г. по 2011 г., после чего отмечалось снижение данного показателя в последующие 2 года наблюдения. Также достоверно снижалась частота использования нетипированных коронарных проводников (с 37 % в 2009 г. до 5,6 % в 2013 г., $p < 0,05$).

Анализ типов коронарных проводников, с которых начиналось выполнение процедуры реканализации ХТО (проводников первого выбора), показал доминирование ЖБЗК (в 70,4 % случаев) в 2009 г., тогда как в 2013 г. число данных проводников достоверно снизилось до 15,6 % ($p < 0,05$). Следует отметить, что в последний год с момента начала программы рентгенэндоваскулярного лечения ХТО достоверно увеличилось использование МЗК проводников в качестве первого выбора (от 0 % в 2009 г. до 52,8 % в 2013 г., $p < 0,05$). Динамика использования проводников СБЗК демонстрирует пик применения данных изделий в качестве первого выбора в 2010–2011 г. (табл. 3) с последующим уменьшением к 2013 г. ($p > 0,05$ при сравнении групп 1 и 5).

Следует отметить, что подобные результаты получены и в других независимых исследованиях. К. Вижуклис с соавт. [14] продемонстрировали увеличение удельного веса успешно выполняемых ПР мягкими проводниками: от 18 % в 1-й четверти исследования до 50 % в 4-й четверти. Одновременно с этим прослеживалась тенденция к уменьшению частоты применения

Т а б л и ц а 3. Проводниковая реканализация хронического окклюзионного поражения антеградным доступом

Table 3. Conduction recanalization of chronic occlusions by the antegrade approach

Показатель	Группа 1 (n = 27)	Группа 2 (n = 60)	Группа 3 (n = 41)	Группа 4 (n = 53)	Группа 5 (n = 36)
Билатеральное контрастирование, n (%)	9 (33,3)	34 (56,7)	24 (58,5)	29 (53,7)	16 (44,4)
Используемые проводники:					
МБЗК, n (%)	6 (15,0) ^{#*}	15 (16,9) ^{•†}	1 (1,7) ^{#*}	3 (3,2) ^{^†}	5 (7,8)
В том числе в качестве первого выбора, n (%)	5 (18,5)	11 (18,3)	1 (2,4)	2 (3,7)	5 (13,9)
МЗК, n (%)	0 (0) ^{□#*}	19 (21,3) ^{□†}	17 (28,8) ^{#□}	51 (54,8) ^{^†□□}	20 (31,3) ^{‡□}
В том числе в качестве первого выбора, n (%)	0 (0) ^{□#*}	18 (30,0) ^{□†}	17 (41,5) ^{#□}	48 (88,9) ^{^†□□}	19 (52,8) ^{‡*□}
СБЗК, n (%)	4 (10,0) ^{□#}	34 (38,2) ^{□†*}	28 (47,5) ^{#□§}	20 (21,5) ^{†□}	11 (17,2) ^{*§}
В том числе в качестве первого выбора, n (%)	3 (11,1) ^{□#}	21 (35,0) ^{□†}	22 (53,7) ^{#□§}	2 (3,8) ^{†□}	6 (16,7) [§]
СЗК, n (%)	0 (0)	1 (1,1)	0 (0)	0 (0)	5 (7,8)
В том числе в качестве первого выбора, n (%)	0 (0)	1 (1,7)	0 (0)	0 (0)	2 (5,6)
ЖБЗК, n (%)	30 (75,0) ^{□#*‡}	12 (13,5) ^{□†}	10 (16,9) ^{#□}	2 (2,2) ^{^†□□}	10 (15,6) ^{‡□}
В том числе в качестве первого выбора, n (%)	19 (70,4) ^{□#*‡}	8 (13,3) ^{□†}	1 (2,4) [#]	1 (1,9) ^{^†}	2 (5,6) [‡]
ЖЗК, n (%)	0 (0) ^{^*}	8 (9,0)	3 (5,1) ^{□§}	17 (18,3) ^{^□}	13 (20,3) ^{‡§}
В том числе в качестве первого выбора, n (%)	0 (0)	1 (1,7)	0 (0)	0 (0)	2 (5,6)
Использование нетипированных проводников, n (%)	10 (37,0) ^{□#*‡}	6 (10,0) [□]	0 (0) [#]	1 (1,9) [^]	2 (5,6) [‡]
Наличие поддержки и ужесточения проводника, n (%)	6 (22,2) ^{^*}	18 (30,0) ^{†*}	14 (34,1)	30 (55,6) ^{^†}	20 (55,6) ^{†*}
Использование стратегии повышения жесткости последующего коронарного проводника, n (%)	5 (18,5)	18 (30,0)	16 (39,0)	26 (49,1)	17 (47,2)
Наиболее частые способы повышения жесткости последующего коронарного проводника:					
МЗК, замена на СБЗК, n (%)	0 (0)	6 (10,0)	4 (9,8)	9 (16,7)	0 (0)
МЗК, замена на ЖБЗК, n (%)	0 (0)	0 (0)	1 (2,4)	1 (1,9)	4 (11,1)
МЗК, замена на ЖЗК, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (11,1)	3 (8,3)
МЗК, замена на СБЗК, замена на ЖЗК, n (%)	0 (0)	1 (1,7)	1 (2,4)	8 (14,8)	0 (0)
Среднее количество проводников, используемых для выполнения антеградной реканализации, M ± σ	1,48 ± 0,70	1,48 ± 0,77	1,44 ± 0,63	1,75 ± 0,81	1,78 ± 0,93

П р и м е ч а н и е. МБЗК – мягкий проводник без зауженного кончика, МЗК – мягкий проводник с полимерным покрытием, с зауженным кончиком, СБЗК – средней жесткости проводник без зауженного кончика, СЗК – средней жесткости проводник с полимерным покрытием, с зауженным кончиком, ЖБЗК – жесткий проводник без зауженного кончика, ЖЗК – жесткий проводник с полимерным покрытием, с зауженным кончиком. Достоверность различий ($p < 0,05$) между группами: □ – 1 и 2; # – 1 и 3; ^ – 1 и 4; ‡ – 1 и 5; • – 2 и 3; † – 2 и 4; * – 2 и 5; □ – 3 и 4; § – 3 и 5; ° – 4 и 5.

жестких проводников. В другой работе F. Burzotta с соавт. [7] показали, что систематизация использования коронарных проводников позволила повысить частоту успеха ПР от 57,1 % (начальный временной отрезок) до 80,5 % (завершающий временной отрезок). При этом выбор в качестве первого проводника МЗК (завершающий временной отрезок) позволил достигнуть процедурного успеха в 40,3 % случаев, тогда как использование в качестве первого выбора СБЗК проводника (средний временной отрезок) либо бессистемный выбор (начальный временной отрезок) позволяли успешно выполнить ПР в 23,6 и 22,9 % случаев соответственно.

Таким образом, наблюдаемые в нашей работе к концу анализируемого 5-летнего периода тенденции к увеличению успешности проведения реканализации ХТО в целом, а также успешности проведения ХТО коронарным проводником обусловлены изменением стратегии реканализации, произошедшей за период времени с 2009 по 2013 г., включающей принцип выбора коронарного проводника, а также характер и последовательность его использования.

Принимая во внимание тот факт, что увеличение агрессивности ПР потенциально может привести к кардиальным осложнениям, представлялось интересным провести анализ частоты развития данных негативных событий. Полученные результаты представлены на рис. 2.

Как следует из рис. 2, частота развития вышеописанных негативных событий варьировалась от 11,3 % в группе 4 до 36,6 % в группе 3 ($p < 0,05$ при сравнении между группами 3, 4). При этом на долю этапа ПР приходилось 35,1 % от общего числа кардиальных осложнений.

Изучение структуры кардиальных осложнений, возникших на этапе ПР, показало, что из данной группы негативных событий наибольший удельный вес (60 %) приходился на долю перфораций стенки коронарной артерии. Для указанного осложнения (рис. 2) наблюдалась тенденция к увеличению частоты встречаемости к концу анализируемого 5-летнего периода (от 0 % в 2009 г. до 8,3 % в 2013 г., $p > 0,05$), что, по всей видимости, обусловлено повышением агрессивности ПР. Вместе с тем в 83,3 % случаев наблюдаемые перфорации относились к типу Ellis II (т. е. к локальным внутритканевым гематомам), не представлявшим угрозы для жизни пациентов. Косвенно данный факт подтверждается отсутствием у всех включенных в настоящее исследование лиц развития «больших осложнений» (летального исхода, острого инфаркта миокарда, потребности в выполнении экстренной операции коронарного шунтирования), случаев тампонады сердца, а также потребности в выполнении дренирования перикарда.

Таким образом, изменение стратегии реканализации, произошедшее за период времени с 2009 по 2013 г., не привело к увеличению как частоты кардиальных осложнений, так и их последствий.

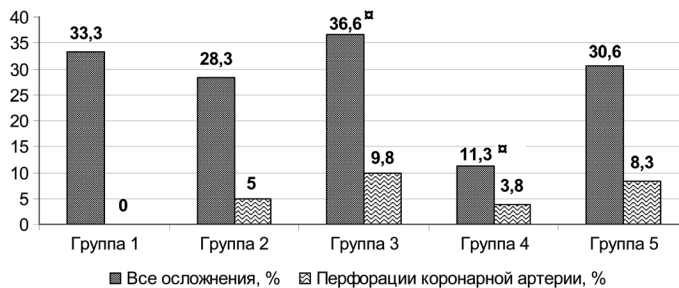


Рис. 2. Общая частота развития кардиальных осложнений и частота перфораций стенки коронарной артерии при реканализации ХТО за период времени с 2009 по 2013 г. ^a – достоверность различий ($p < 0,05$) между группами 3 и 4

Fig. 2. Total frequency of cardiac complications and the perforation frequency of the coronary artery wall at recanalization of chronic total occlusions from 2009 to 2013. ^a – reliability of differences ($p < 0.05$) between groups 3 and 4

Выводы

1. Через 5 лет с момента старта программы рентгенэндоваскулярного лечения ХТО коронарных артерий отмечалось увеличение числа оперируемых пациентов с более сложной рентгеноморфологией коронарных артерий и лиц с клинически более тяжелыми формами поражений.

2. К моменту завершения 5-летнего периода исследования наблюдалась тенденция к увеличению общего успеха реканализации, что обусловлено изменением стратегии реканализации, а именно принципом выбора коронарного проводника, а также характером и последовательностью его использования.

3. Изменение стратегии реканализации ХТО, произошедшее за период времени с 2009 по 2013 г., не привело к увеличению частоты кардиальных осложнений и их последствий.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Current perspectives on coronary chronic total occlusions: the Canadian multicenter chronic total occlusions registry / P. Fefer [et al.] // *J. of the Am. College of Cardiol.* – 2012. – Vol. 59, N 11. – P. 991–997.
2. Prevalence and management of coronary chronic total occlusions in a tertiary veterans affairs hospital / O. Jeroudi [et al.] // *Catheterization and Cardiovascular Interventions.* – 2014. – Vol. 84, N 4. – P. 637–643.
3. Procedural outcomes of revascularization of chronic total occlusion of native coronary arteries (from a multicenter United States registry) / T. Michael [et al.] // *Am. J. of Cardiol.* – 2013. – Vol. 112, N 4. – P. 488–492.
4. Percutaneous coronary intervention versus coronary artery bypass grafting for severe coronary artery disease / P. Serruys [et al.] // *New Eng. J. of Medicine.* – 2009. – Vol. 360, N 10. – P. 961–972.
5. Quantification and impact of untreated coronary artery disease after percutaneous coronary intervention: the residual SYNTAX (Synergy between PCI with Taxus and Cardiac Surgery) score / P. Genereux [et al.] // *J. of the Am. College of Cardiol.* – 2012. – Vol. 59, N 24. – P. 2165–2174.
6. Relationship between initial treatment strategy and quality of life in patients with coronary chronic total occlusions / H. Wijeyesundera [et al.] // *EuroIntervention.* – 2014. – Vol. 9, N 10. – P. 1165–1172.
7. Impact of operator experience and wiring technique on procedural efficacy of trans-radial percutaneous chronic total occlusion recanalization performed by dedicated radialists / F. Burzotta [et al.] // *Cardiol. J.* – 2013. – Vol. 20, N 5. – P. 560–567.
8. Siegrist, P. Chronic total occlusion: current methods of revascularization / P. Siegrist, S. Sumitsuji // *Cardiovasc. Med.* – 2014. – Vol. 17, N 12. – P. 347–353.
9. Predicting successful guidewire crossing through chronic total occlusion of native coronary lesions within 30 minutes: the J-CTO (Multicenter CTO Registry in Japan) score as a difficulty grading and time assessment tool / Y. Morino [et al.] // *JACC: Cardiovascular Interventions.* – 2011. – Vol. 4, N 2. – P. 213–221.
10. Validation of the J-chronic total occlusion score for chronic total occlusion percutaneous coronary intervention in an independent contemporary cohort / L. Nombela-Franco [et al.] // *Circulation: Cardiovascular Interventions.* – 2013. – Vol. 6, N 6. – P. 635–643.
11. Retrograde techniques and the impact of operator volume on percutaneous intervention for coronary chronic total occlusions: an early U. S. experience / C. Thompson [et al.] // *JACC: Cardiovascular Interventions.* – 2009. – Vol. 2, N 9. – P. 834–842.
12. Temporal trends of fluoroscopy time and contrast utilization in coronary chronic total occlusion revascularization: insights from a multicenter United States registry / T. Michael [et al.] // *Catheterization and Cardiovascular Interventions.* – 2015. – Vol. 85, N 3. – P. 393–399.
13. Improving success rates of percutaneous coronary intervention for chronic total occlusion at a rural hospital in East Taiwan / Wang Kuang-Te [et al.] // *Intern. J. of Gerontol.* – 2014. – Vol. 8, N 3. – P. 157–161.
14. Bijklic, K. Recanalization of chronic total coronary occlusions – high success rate despite a restrictive use of the retrograde approach / K. Bijklic, C. Schwencke, J. Schofer // *Catheterization and Cardiovascular Interventions.* – 2016. – Vol. 87, N 5. – P. E183–E191.
15. European perspective in the recanalization of Chronic Total Occlusions (CTO): consensus document from the EuroCTO Club / C. DiMario [et al.] // *EuroIntervention.* – 2007. – Vol. 3, N 1. – P. 30–43.
16. Percutaneous recanalization of chronically occluded coronary arteries: a consensus document: part I / G. Stone [et al.] // *Circulation.* – 2005. – Vol. 112, N 15. – P. 2364–2372.
17. Benjamini, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing / Y. Benjamini, Y. Hochberg // *J. of the Royal Stat. Soc.* – 1995. – Vol. 57, N 1. – P. 289–300.
18. Marco, J. PCI for chronic total occlusions / J. Marco, A. Serra. – Crossroads Institute for Cardiac and Vascular Education, 2008. – 54 p.
19. Trends in outcomes after percutaneous coronary intervention for chronic total occlusions. A 25-year experience from the Mayo / A. Prasad [et al.] // *Clin. J. of the Am. College of Cardiol.* – 2007. – Vol. 49, N 15. – P. 1611–1618.

References

1. Fefer P., Knudtson M., Cheema A., Galbraith P., Osharov A., Yalonetsky S., Gannot S., Samuel M., Weisbrod M., Bierstone D. Current perspectives on coronary chronic total occlusions: the Canadian multicenter chronic total occlusions registry. *Journal of the American College of Cardiology*, 2012, vol. 59, no. 11, pp. 991–997. doi: 10.1016/j.jacc.2011.12.007.
2. Jeroudi O., Alomar M., Michael T., Sabbagh A., Patel V., Mogabgab O., Fuh E., Sherbet D., Lo N., Roesle M., Rangan B., Abdullah S., Hastings J., Grodin J., Banerjee S., Brilakis E. Prevalence and management of coronary chronic total occlusions in a tertiary veterans affairs hospital. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 2014, vol. 84, no. 4, pp. 637–643.
3. Michael T., Karpaliotis D., Brilakis E., Fuh E., Patel V., Mogabgab O., Alomar M., Kirkland B., Lembo N., Kalynych A., Carlson H., Banerjee S., Lombardi W., Kandzari D. Procedural outcomes of revascularization of chronic total occlusion of native coronary arteries (from a multicenter United States registry). *American Journal of Cardiology*, 2013, vol. 112, no. 4, pp. 488–492. doi: 10.1016/j.amjcard.2013.04.008.
4. Serruys P., Morice M., Kappetein A., Colombo A., Holmes D., Mack M., Stehle E., Feldman T., van den Brand M., Bass E., Van Dyck N., Leadley K., Dawkins K., Mohr F. Percutaneous coronary intervention versus coronary artery bypass grafting for severe coronary artery disease. *New England Journal of Medicine*, 2009, vol. 360, no. 10, pp. 961–972.

5. Genereux P., Palmerini T., Gaixeta A., Rosner G., Green P., Dressler O., Xu K., Parise H., Mehran R., Serruys P., Stone G. Quantification and impact of untreated coronary artery disease after percutaneous coronary intervention: The residual SYNTAX (Synergy between PCI with Taxus and Cardiac Surgery) score. *Journal of the American College of Cardiology*, 2012, vol. 59, no. 24, pp. 2165–2174.
6. Wijeysondera H., Norris C., Fefer P., Galbraith P., Knudtson M., Wolff R., Wright G., Strauss B., Ko D. Relationship between initial treatment strategy and quality of life in patients with coronary chronic total occlusions. *EuroIntervention*, 2014, vol. 9, no. 10, pp. 1165–1172. doi: 10.4244/EIJV9I10A197.
7. Burzotta F., Trani C., Tommasino A., Brancati M., Saffioti S., Pirozzolo G., Niccoli G., Leone A., Schiavoni G., Crea F. Impact of operator experience and wiring technique on procedural efficacy of trans-radial percutaneous chronic total occlusion recanalization performed by dedicated radialists. *Cardiology Journal*, 2013, vol. 20, no. 5, pp. 560–567.
8. Siegrist P., Sumitsuji S. Chronic total occlusion: current methods of revascularization. *Cardiovascular Medicine*, 2014, vol. 17, no. 12, pp. 347–353.
9. Morino Y., Abe M., Morimoto T., Kimura T., Hayashi Y., Muramatsu T., Ochiai M., Noguchi Y., Kato K., Shibata Y., Hiasa Y., Doi O., Yamashita T., Hinohara T., Tanaka H., Mitsudo K. Predicting successful guidewire crossing through chronic total occlusion of native coronary lesions within 30 minutes: the J-CTO (Multicenter CTO Registry in Japan) score as a difficulty grading and time assessment tool. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 2011, vol. 4, no. 2, pp. 213–221.
10. Nombela-Franco L., Urena M., Jerez-Valero M., Nguyen C., Ribeiro H., Bataille Y., Rodı́s-Cabau J., Rinfret S. Validation of the J-chronic total occlusion score for chronic total occlusion percutaneous coronary intervention in an independent contemporary cohort. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 2013, vol. 6, no. 6, pp. 635–643. doi: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.113.000447.
11. Thompson C., Jayne J., Robb J., Friedman B., Kaplan A., Hettleman B., Niles N., Lombardi W. Retrograde techniques and the impact of operator volume on percutaneous intervention for coronary chronic total occlusions: an early U. S. experience. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 2009, vol. 2, no. 9, pp. 834–842. doi: 10.1016/j.jcin.2009.05.022.
12. Michael T., Karpaliotis D., Brilakis E., Alomar M., Abdullah S., Kirkland B., Mishoe K., Lembo N., Kalynych A., Carlson H., Banerjee S., Luna M., Lombardi W., Kandzari D. Temporal trends of fluoroscopy time and contrast utilization in coronary chronic total occlusion revascularization: insights from a multicenter United States registry. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 2015, vol. 85, no. 3, pp. 393–399.
13. Wang Kuang-Te, Chen Chun-Yen, Chen Yun-Tzy, Tsai Jui-Peng, Lin Wen-Hsiung, Cheng Hsiao-Yang, Yeh Hung-I, Hou Jia-Yin. Improving success rates of percutaneous coronary intervention for chronic total occlusion at a rural hospital in East Taiwan. *International Journal of Gerontology*, 2014, vol. 8, no. 3, pp. 157–161.
14. Bijuklic K., Schwencke C., Schofer J. Recanalization of chronic total coronary occlusions – high success rate despite a restrictive use of the retrograde approach. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 2016, vol. 87, no. 5, pp. E183–E191.
15. DiMario C., Werner G., Sianos G., Galassi A., Bı́ttner J., Dudek D., Chevalier B., Lefevre T., Schofer J., Koolen J., Sievert H., Reimers B., Fajadet J., Colombo A., Gershlick A., Serruys P., Reifart N. European perspective in the recanalization of Chronic Total Occlusions (CTO): consensus document from the EuroCTO Club. *EuroIntervention*, 2007, vol. 3, no. 1, pp. 30–43.
16. Stone G., Kandzari D., Mehran R., Colombo A., Schwartz R., Bailey S., Moussa I., Teirstein P., Dangas G., Baim D., Selmon M., Strauss B., Tamai H., Suzuki T., Mitsudo K., Katoh O., Cox D., Hoye A., Mintz G., Grube E., Cannon L., Reifart N., Reisman M., Abizaid A., Moses J., Leon M., Serruys P. Percutaneous recanalization of chronically occluded coronary arteries: a consensus document: part I. *Circulation*, 2005, vol. 112, no. 15, pp. 2364–2372.
17. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society*, 1995, vol. 57, no. 1, pp. 289–300.
18. Marco J., Serra A. *PCI for chronic total occlusions*. Crossroads Institute for Cardiac and Vascular Education, 2008, 54 p.
19. Prasad A., Rihal C., Lennon R., Wiste H., Singh M., Holmes D. Trends in outcomes after percutaneous coronary intervention for chronic total occlusions. A 25-year experience from the Mayo Clinic. *Journal of the American College of Cardiology*, 2007, vol. 49, no. 15, pp. 1611–1618. doi:10.1016/j.jacc.2006.12.040.

Інфармацыя аб аўторэ

Стельмашок Валерый Івановіч – канд. мед. навук, доцент, заведуючы лабораторыяй. Рэспубліканскі навучна-практычны цэнтр «Кардыялогія» (ул. Р. Люксембург, 110В, 220036, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: stelval@yandex.ru.

Information about the author

Valeriy I. Stelmashok – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Head of the Laboratory. National Scientific and Practical Centre “Cardiology”, Minsk, Republic of Belarus (110B, R. Luxemburg Str., 220036, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: stelval@yandex.ru.

А. В. Рожко, А. А. Чешик, И. В. Вейлкин, С. Н. Никонович

*Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека,
Гомель, Республика Беларусь*

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ КРОВИ И ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ У ЛИКВИДАТОРОВ КАТАСТРОФЫ НА ЧАЭС В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Аннотация. Авария на Чернобыльской АЭС была наиболее масштабной радиационно-экологической катастрофой, в ликвидации последствий которой принимало участие порядка 100 000 граждан Беларуси. На основании накопленного опыта в первые годы после аварии прогнозировался рост заболеваемости злокачественными новообразованиями крови у пострадавшего населения, однако до настоящего времени не сформировалось однозначного мнения о вкладе радиационного фактора в заболеваемость лейкозами и лимфомами.

Таким образом, целью работы явилось изучение особенностей формирования заболеваемости злокачественными новообразованиями крови и лимфатической системы у ликвидаторов катастрофы на ЧАЭС в Республике Беларусь. В работе использованы данные Государственного регистра лиц, подвергшихся воздействию радиации вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС, за период с 1987 по 2015 г. С использованием показателя стандартизованного соотношения заболеваемости (SIR) проведен эпидемиологический анализ заболеваемости лейкозами, лимфомами и множественной миеломой. По итогам оценки риска развития гемобластозов сделан вывод об избыточности заболеваемости лейкозами в когорте ликвидаторов аварии на ЧАЭС ($SIR = 1,3 (1,2-1,46)$). Показано, что высокий риск развития лейкозов формировался за счет хронических лимфоцитарных ($SIR = 1,3 (1,14-1,53)$) и миелоцитарных ($SIR = 1,7 (1,35-2,03)$) лейкозов. Однако при этом не получено четкой зависимости между риском развития гемобластозов и плотностью загрязнения, а также индивидуализированными поглощенными дозами на красный костный мозг. В то же время в 32 % случаев миеломная болезнь отмечалась у ликвидаторов, выполнявших работы на территории с плотностью загрязнения ^{137}Cs свыше 40 Ки/км² ($SIR = 1,8 (1,16-2,8)$). Таким образом, проведенное исследование позволило охарактеризовать риски развития различных форм гемобластозов и выявить тенденции в их распределении у ликвидаторов.

Ключевые слова: ликвидаторы, авария на ЧАЭС, радиационный фактор, злокачественные новообразования крови и лимфатической системы, заболеваемость

Для цитирования: Заболеваемость злокачественными новообразованиями крови и лимфатической системы у ликвидаторов катастрофы на ЧАЭС в Республике Беларусь / А. В. Рожко [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 3. – С. 82–90.

A. V. Rozhko A. A. Cheshik, I. V. Veyalkin, S. N. Nikanovich

Republican Research Center of Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus

INCIDENCE OF MALIGNANT NEOPLASMS OF BLOOD AND LYMPHATIC SYSTEM OF LIQUIDATORS OF THE CHERNOBYL ACCIDENT IN THE REPUBLIC OF BELARUS

Abstract. The accident at the Chernobyl nuclear power plant was the most huge radiation and ecological catastrophe. About 100,000 Belarusian citizens took part in the liquidation of the Chernobyl accident. During the first years after the accident, the growth of incidence of malignant neoplasms of blood of the affected population was predicted. But till now, there is no clear conclusion about the contribution of the radiation factor to the incidence of leucosis and lymphomas. The purpose of the study was to analyze the features of forming the incidence of malignant neoplasms of the blood and lymphatic system of the liquidators of the Chernobyl accident in the Republic of Belarus. The data of the State Register of persons exposed to radiation following the Chernobyl catastrophe for the period from 1987 to 2015 were used. The epidemiological analysis of the incidence of leukemias, lymphomas and multiple myeloma was made using the standardized incidence ratio (SIR). The excess of incidence of leukemias in the cohort of liquidators of the Chernobyl accident was noted. The excess fraction of leukemias was about 20–40 % ($SIR = 1.3 (1.2-1.46)$). It was shown that the high risk of leukemia was formed due to chronic lymphocytic ($SIR = 1.3 (1.14-1.53)$) and myelocytic ($SIR = 1.7 (1.35-2.03)$) leukemias regardless of the status of a liquidator. There was also no clear dependence between the risk of hemoblastosis and the density of contamination, as well as the individualized absorbed dose on the blood marrow. However, it can be stated that a large proportion of cases of myeloma (32 %) was found in the liquidators who performed

their work in the territory with the Cs^{137} pollution density of more than 40 Ku/km^2 ($SIR = 1.8$ (1.16–2.8)). Thus, the conducted research allowed one to characterize the risks of development of various forms of hemoblastosis in liquidators and to show trends in the distribution of incidence of certain their forms.

Keywords: Chernobyl accident, liquidators, radiation, malignant neoplasms of blood and lymphatic system, incidence ratio.

For citation: Rozhko A. V., Cheshik A. A., Veyalkin I. V., Nikanovich S. N. Incidence of malignant neoplasms of blood and lymphatic system of liquidators of the Chernobyl accident in the Republic of Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 82–90 (in Russian).

Введение. По данным Международного агентства по изучению рака, ионизирующее излучение является канцерогенным для человека, что подтверждено достоверными сведениями. В ряде публикаций сообщается о высоком риске развития злокачественных новообразований крови уже через 2–3 года после острого облучения [1, 2]. В результате аварии на ЧАЭС массивному радиоактивному загрязнению подверглись большие территории Беларуси, России и Украины. В Республике Беларусь к пострадавшему в результате аварии населению было отнесено порядка 2 млн человек [3]. Уже в первые годы после аварии наблюдался значительный рост заболеваемости раком щитовидной железы, особенно в группах пострадавшего населения [4]. Однако схожего по темпам роста заболеваемости злокачественными новообразованиями крови в Беларуси в «постчернобыльский» период отмечено не было: в структуре заболеваемости злокачественными опухолями лейкозы (C91–C95) на протяжении всего послеаварийного периода составляли порядка 2–3 % как у мужчин, так и у женщин [5]. После аварии в Республике Беларусь не отмечалось и выраженного подъема заболеваемости лимфомой Ходжкина (ЛХ) и множественной миеломой (ММ) [6, 7], но в то же время, по данным Белорусского республиканского канцер-регистра, в последние 30 лет наблюдается рост заболеваемости неходжкинскими лимфомами (НХЛ) [6, 7]. Согласно постановлению Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 73 от 26.06.2009 г., острые лейкозы, хронические миелоидные лейкозы, миелодиспластические синдромы и ММ относятся к заболеваниям, возникновение которых может быть связано с катастрофой на Чернобыльской АЭС, в том числе у ликвидаторов последствий этой аварии. Последние во время выполнения работ получили значительные дозы радиационного облучения и могут быть отнесены к группе высокого радиационного риска [3]. В то же время проведенный анализ литературных источников не показал достаточного количества публикаций, характеризующих риск развития злокачественных новообразований крови у ликвидаторов в Республике Беларусь в разрезе влияния целого ряда факторов, связанных с нахождением в зоне радиоактивного загрязнения.

Цель данной работы – изучение особенностей формирования заболеваемости злокачественными новообразованиями крови и лимфатической системы у ликвидаторов катастрофы на Чернобыльской АЭС в Республике Беларусь.

Материалы и методы исследования. В работе проанализированы данные Государственного регистра лиц, подвергшихся воздействию радиации вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС (Госрегистр), проживающих в Республике Беларусь, за период с 1987 по 2015 г. Проведен анализ заболеваемости злокачественными новообразованиями крови, лимфатической и кроветворной системы (ЗНКЛКС) у 98 496 ликвидаторов аварии на ЧАЭС (79 978 мужчин и 18 518 женщин).

Для проведения детального исследования ликвидаторы были разделены на группы в зависимости от пола, места пребывания (учитывая плотность загрязнения ^{137}Cs в 1986 г.); продолжительности (10 дней и меньше или больше 10 дней), периода нахождения в зоне радиоактивного загрязнения (1986, 1987, 1988, 1989 гг., в первые 40 дней, от 40 до 99 и через 100 дней и более после аварии); от индивидуализированной накопленной эквивалентной дозы (ИД) на красный костный мозг (ККМ) и окружающую костную ткань, рассчитанной по утвержденной Министерством здравоохранения методике [8]). Сформированные группы были неоднородны: большинство ликвидаторов (81,1 %) были мужчины (68,2 % в возрасте от 20 до 39 лет на момент аварии), 77,5 % участвовали в ликвидации в 1986 г., 78,9 % находились больше 10 дней в зоне эвакуации (отчуждения), по 40 % ликвидаторов находились в зоне эвакуации в первые 40 и 100 дней и более, 52,2 % находилось в зоне с плотностью загрязнения Cs^{137} 15,0–39,9 Ku/km^2 и 22,9 % – 40 Ku/km^2 и выше, а также порядка 50 % ликвидаторов имели ИД на ККМ в интервале 20–49 мЗв и только 11,5 % – свыше 100 мЗв.

В работе использована международная классификация болезней 10-го пересмотра (МКБ-10), учтены особенности заболеваемости как всеми лейкозами (С91–С95), так и наиболее распространенными их формами: острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ: С91.0), острым миелобластным лейкозом (ОМЛ: С92.0, С93.0, С94.0, С94.2, С94.4–94.5), хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ: С91.1) и хроническим миелоцитарным лейкозом (ХМЛ: С92.1, С93.1, С94.1), а также НХЛ (С82.0–С85.9, С96), ЛХ (С81) и ММ (С90.0).

В работе использовали непрямой метод стандартизации данных по возрасту, календарному времени и месту проживания. Определяли стандартизованные соотношения заболеваемости (SIR), представленные отношением установленных случаев злокачественных новообразований к ожидаемому числу случаев, рассчитанному на основании референтных, популяционных, уровней заболеваемости. В качестве контроля использовали уровни заболеваемости злокачественными новообразованиями в популяции Республики Беларусь. Статистическую значимость показателей определяли согласно распределению Пуассона [9, 10]. Различия считали статистически значимыми при вероятности ошибки $p < 0,05$. Силу связи между величиной фактора и риском развития злокачественного новообразования оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена (r_s).

Результаты и их обсуждение. За весь период в исследуемой когорте установлено 420 случаев лейкозов (SIR = 1,3 (1,19–1,45); $p < 0,05$), 258 лимфом, из которых ЛХ – 72 (SIR = 1,1 (0,87–1,4); $p > 0,05$), НХЛ – 186 (SIR = 1,1 (0,91–1,22); $p > 0,05$), а также 85 случаев ММ (SIR = 1,2 (0,93–1,44); $p > 0,05$) (табл. 1). Таким образом, в целом за период с 1987 по 2015 г. статистически значимые отличия риска развития ЗНКЛКС от популяционного отмечались только у ликвидаторов с лейкозами. При этом риск заболеть ЛХ, НХЛ и ММ был на 10–20 % выше республиканского уровня, но статистически незначим.

При анализе заболеваемости лейкозами по подгруппам отмечался статистически значимо высокий риск развития хронических лейкозов: для ХЛЛ SIR = 1,3 (1,14–1,53), для ХМЛ SIR = 1,7 (1,35–2,03). При этом в динамике по 5-летним временным интервалам риск хронических лейкозов не всегда был статистически значимым: достоверно высоким риск ХМЛ был в 1990–1994 гг. (SIR = 2,0 (1,16–3,3)) и 1995–1999 гг. (SIR = 2,3 (1,44–3,47)), в то время как для ХЛЛ он был значимо выше в более отдаленном периоде (в 2000–2004 гг. (SIR = 1,5 (1,05–2,0)) и 2010–2015 гг. (SIR = 1,4 (1,03–1,75)).

Т а б л и ц а 1. Распределение по временным интервалам наблюдаемых случаев (Н) ЗНКЛКС и показателей стандартизованного соотношения заболеваемости злокачественными новообразованиями крови, лимфатической и кроветворной системы, скорректированных по полу и месту жительства (SIR)

Table 1. Distribution of the time intervals of the observed cases (H) of incidence of malignant neoplasms of blood, lymphatic and blood systems, and the standardized incidence ratios (SIR) adjusted by sex and residence place

Локали- зация	1987–1989		1990–1994		1995–1999		2000–2004		2005–2009		2010–2015		1987–2015	
	Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)
ЛХ	7	0,8 (0,3–1,55)	8	0,5 (0,23–1,06)	13	1 (0,56–1,78)	18	1,8 (1,05–2,8)*	11	1,2 (0,58–2,08)	15	1,8 (1,01–2,97)*	72	1,1 (0,87–1,4)
ММ	0	0,0 (0,0–11,58)	4	0,7 (0,19–1,79)	8	0,8 (0,36–1,63)	17	1,2 (0,71–1,96)	22	1,2 (0,76–1,85)	34	1,3 (0,93–1,87)	85	1,2 (0,93–1,44)
НХЛ	5	0,7 (0,21–1,54)	12	0,7 (0,35–1,17)	25	1,0 (0,64–1,47)	37	1,3 (0,88–1,72)	47	1,2 (0,88–1,59)	60	1,1 (0,81–1,37)	186	1,1 (0,91–1,22)
ОЛЛ	0	0,0 (0,0–5,92)	3	0,8 (0,17–2,42)	2	0,5 (0,06–1,9)	7	2,0 (0,8–4,09)	12	2,9 (1,49–5,03)*	2	0,7 (0,08–2,36)	26	1,4 (0,9–2,03)
ОМЛ	0	0,0 (0,0–5,75)	3	0,6 (0,13–1,78)	10	1,1 (0,53–2,05)	8	0,7 (0,31–1,41)	8	0,7 (0,32–1,46)	21	1,6 (1,01–2,49)*	50	1,0 (0,75–1,34)
ХЛЛ	5	2,8 (0,9–6,47)	17	1,1 (0,65–1,79)	25	1,2 (0,79–1,79)	40	1,5 (1,05–2,0)*	46	1,3 (0,92–1,68)	59	1,4 (1,03–1,75)*	192	1,3 (1,14–1,53)*
ХМЛ	2	3,5 (0,43–12,73)	16	2,0 (1,16–3,3)*	22	2,3 (1,44–3,47)*	17	1,4 (0,79–2,18)	22	1,6 (1,0–2,41)	21	1,3 (0,82–2,04)	100	1,7 (1,35–2,03)*
Все лейкозы	13	0,7 (0,35–1,14)	48	1,2 (0,89–1,6)	67	1,4 (1,11–1,82)*	78	1,3 (1,05–1,66)*	101	1,4 (1,17–1,75)*	113	1,3 (1,11–1,62)*	420	1,3 (1,19–1,45)*

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2, 3 * – $p < 0,05$.

Острые лейкозы у ликвидаторов встречались реже, чем хронические (отмечено 76 случаев – 26 ОЛЛ и 50 ОМЛ). Риск развития как ОЛЛ, так и ОМЛ в разные периоды наблюдения в целом значительно не отличался от популяционного уровня. Однако в 2005–2009 гг. выявлен резкий подъем риска ОЛЛ, который статистически значительно превысил популяционный уровень в 2,9 (1,49–5,03) раза, а для ОМЛ значимое превышение соотношения заболеваемости отмечено в 2010–2015 гг. (SIR = 1,6 (1,01–2,49)).

Следует отметить увеличение риска развития ЛХ начиная с 2000 г. Так, если до этого времени заболеваемость ЛХ у ликвидаторов была сопоставима с популяционным уровнем, то после в 2000 г. она стала превышать популяционный уровень: статистически значимо в 2000–2004 гг. (SIR = 1,8 (1,05–2,8)) и 2010–2015 гг. (SIR = 1,8 (1,01–2,97)).

Как видно из табл. 2, статистически значимые стандартизованные соотношения заболеваемости лейкозами наблюдались у всех ликвидаторов независимо от пола. Как указывалось выше, высокий риск лейкозов был обусловлен в основном вкладом хронических форм как у мужчин (SIR = 1,3 (1,07–1,48)) для ХЛЛ и SIR = 1,7 (1,35–2,1) для ХМЛ), так и у женщин (SIR = 1,6 (1,11–2,17))

Таблица 2. Распределение наблюдаемых случаев (Н) лейкозов и показателей стандартизованного соотношения заболеваемости, скорректированных по полу и месту жительства (SIR)

Table 2. Distribution of the observed cases (H) of leukemias and standardized incidence ratios (SIR) adjusted by sex and residence place

Показатель	Объем выборки	Локализация									
		ОЛЛ		ОМЛ		ХЛЛ		ХМЛ		Все лейкозы	
		Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)
Женщины	18 518	5	1,3 (0,41–2,97)	15	1,4 (0,78–2,3)	37	1,6 (1,11–2,17)*	17	1,5 (0,9–2,47)	82	1,4 (1,12–1,75)*
Мужчины	79 978	21	1,4 (0,87–2,16)	35	0,9 (0,63–1,26)	153	1,3 (1,07–1,48)*	83	1,7 (1,35–2,1)*	338	1,3 (1,16–1,44)*
Возраст на момент аварии, лет:											
15–19	2846	2	5,4 (0,65–19,35)	1	1,8 (0,05–10,29)	0	0,0 (0,0–8,91)	1	1,6 (0,04–8,99)	5	2,0 (0,67–4,78)
20–24	14 844	3	1,6 (0,33–4,65)	7	2,0 (0,79–4,07)	6	1,3 (0,46–2,72)	5	1,1 (0,37–2,63)	23	1,3 (0,81–1,91)
25–29	19 790	3	1,3 (0,27–3,78)	3	0,5 (0,1–1,39)	10	0,8 (0,4–1,53)	9	1,3 (0,57–2,38)	29	0,9 (0,6–1,28)
30–34	17 836	1	0,5 (0,01–2,54)	12	1,8 (0,92–3,1)	21	1,1 (0,69–1,7)	9	1,1 (0,52–2,17)	48	1,2 (0,88–1,58)
35–39	14 680	3	1,2 (0,25–3,54)	6	0,8 (0,28–1,67)	34	1,5 (1,04–2,11)*	16	1,7 (0,95–2,69)	71	1,5 (1,14–1,85)*
40–44	7220	2	1,1 (0,14–4,1)	2	0,4 (0,05–1,46)	18	1,1 (0,65–1,74)	12	1,9 (0,99–3,34)	43	1,3 (0,93–1,73)
45–49	10 365	8	2,6 (1,1–5,03)*	9	1,0 (0,47–1,96)	43	1,4 (1,04–1,93)*	23	2,0 (1,29–3,05)*	92	1,5 (1,2–1,82)*
50–54	6045	3	1,3 (0,28–3,9)	8	1,3 (0,58–2,65)	26	1,2 (0,82–1,83)	17	2,5 (1,46–4,01)*	59	1,4 (1,06–1,8)*
55–59	3772	1	0,5 (0,01–2,85)	2	0,5 (0,06–1,85)	29	1,9 (1,27–2,73)*	6	1,2 (0,45–2,69)	42	1,3 (0,96–1,8)
60–64	821	0	0,0 (0,0–10,03)	0	0,0 (0,0–4,76)	5	1,6 (0,53–3,78)	2	2,2 (0,26–7,84)	8	1,2 (0,53–2,41)
Год начала работы на загрязненной территории:											
1986	76 163	21	1,4 (0,84–2,07)	40	1,0 (0,7–1,34)	153	1,3 (1,08–1,49)*	90	1,8 (1,46–2,24)*	342	1,3 (1,16–1,44)*
1987	16 597	5	1,8 (0,59–4,23)	10	1,4 (0,65–2,5)	36	1,8 (1,23–2,43)*	9	1,0 (0,46–1,93)	70	1,5 (1,2–1,95)*
1988	3541	0	0,0 (0,0–9,54)	0	0,0 (0,0–3,63)	2	0,8 (0,09–2,76)	1	0,8 (0,02–4,51)	6	1,0 (0,37–2,18)
1989	1920	0	0,0 (0,0–24,44)	0	0,0 (0,0–9,21)	1	1,0 (0,02–5,46)	0	0,0 (0,0–7,48)	2	0,9 (0,1–3,12)

Окончание табл. 2

Показатель	Объем выборки	Локализация									
		ОЛЛ		ОМЛ		ХЛЛ		ХМЛ		Все лейкозы	
		Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)
К-во дней от момента аварии до первого въезда на загрязненную территорию:											
0–39	40 145	9	1,0 (0,47–1,96)	19	0,8 (0,51–1,31)	85	1,2 (0,98–1,52)	42	1,5 (1,08–2,03)*	176	1,2 (1–1,35)*
40–99	17 018	5	1,6 (0,51–3,63)	11	1,3 (0,64–2,31)	31	1,2 (0,84–1,76)	19	1,8 (1,11–2,89)*	74	1,3 (1,06–1,69)*
≥100	41 147	12	1,8 (0,91–3,07)	20	1,1 (0,67–1,7)	76	1,5 (1,18–1,87)*	39	1,8 (1,27–2,44)*	170	1,5 (1,29–1,75)*
Продолжительность нахождения на загрязненной территории, дней:											
≤10	20 754	5	1,1 (0,35–2,52)	12	1,0 (0,52–1,74)	59	1,6 (1,23–2,08)*	30	2,0 (1,38–2,91)*	119	1,5 (1,24–1,79)*
>10	77 556	21	1,5 (0,92–2,27)	38	1,0 (0,72–1,4)	133	1,2 (1,03–1,46)*	70	1,5 (1,2–1,95)*	301	1,3 (1,12–1,41)*
Плотность загрязнения ¹³⁷ Cs территорий, на которых выполнялись работы, Ки/км ² :											
1,0–4,99	1932	1	3,6 (0,09–20)	0	0,0 (0,0–5,18)	3	1,4 (0,3–4,24)	3	3,4 (0,7–9,9)	7	1,5 (0,6–3,09)
5,0–14,99	14 699	4	1,5 (0,4–3,76)	5	0,7 (0,23–1,64)	24	1,2 (0,75–1,74)	14	1,6 (0,89–2,73)	52	1,1 (0,85–1,49)
15,0–39,99	35 234	10	1,5 (0,7–2,68)	16	0,9 (0,5–1,43)	77	1,5 (1,15–1,83)*	30	1,4 (0,93–1,97)	151	1,3 (1,1–1,53)*
≥40	15 397	6	2,0 (0,73–4,32)	13	1,6 (0,86–2,76)	28	1,2 (0,78–1,69)	16	1,6 (0,93–2,64)	70	1,3 (1,05–1,7)*
Индивидуализированная поглощенная доза на ККМ и окружающую костную ткань, мЗв:											
<20	9727	1	0,5 (0,01–2,62)	3	0,5 (0,11–1,6)	21	1,2 (0,76–1,89)	14	2,0 (1,12–3,43)*	46	1,2 (0,91–1,66)
20–49	24 108	8	1,6 (0,69–3,13)	15	1,2 (0,65–1,91)	46	1,2 (0,85–1,55)	21	1,3 (0,81–1,99)	100	1,2 (0,94–1,4)
50–99	7171	2	1,3 (0,16–4,74)	4	1,0 (0,27–2,57)	17	1,4 (0,82–2,26)	7	1,5 (0,58–2,99)	32	1,2 (0,83–1,72)
100–149	2417	1	1,8 (0,04–9,81)	0	0,0 (0,0–2,48)	6	1,4 (0,5–2,99)	4	2,3 (0,63–5,9)	11	1,1 (0,57–2,05)
150–300	2015	0	0,0 (0,0–8,11)	4	3,4 (0,92–8,65)	1	0,3 (0,01–1,54)	3	2,1 (0,43–6,1)	8	1,0 (0,44–2)
>300	911	0	0,0 (0,0–17,89)	0	0,0 (0,0–6,87)	0	0,0 (0,0–2,17)	1	1,5 (0,04–8,35)	1	0,3 (0,01–1,54)

для ХЛЛ и SIR = 1,5 (0,9–2,47)) для ХМЛ). Риск развития ОЛЛ был повышен, однако статистически незначимо, что может говорить о возможной связи ОЛЛ с воздействием радиационного фактора.

Анализ заболеваемости лейкозами в зависимости от возраста на момент аварии показал высокий риск развития хронических лейкозов практически во всех возрастных группах, однако статистически значимо высокий показатель SIR для ХЛЛ был у ликвидаторов, которым на момент аварии было 35–39 лет (SIR = 1,5 (1,04–2,11)), 45–49 лет (SIR = 1,4 (1,04–1,93)) и 55–59 лет (SIR = 1,9 (1,27–2,73)), значимо высокий риск развития ХМЛ – у ликвидаторов, которым на момент аварии было 45–49 лет (SIR = 2,0 (1,29–3,05)) и 50–54 года (SIR = 2,5 (1,46–4,01)). Данные

формы лейкозов сформировали статистически значимо высокий показатель соотношения заболеваемости в этих возрастных группах и для всех лейкозов в целом. Следует отметить 5-кратное увеличение риска ОЛЛ в возрастной группе 15–19 лет на момент аварии, которое не является статистически значимым (всего 2 случая). При этом достоверно высокий риск развития ОЛЛ отмечался у ликвидаторов, которым на момент аварии было 45–49 лет ($SIR = 2,6 (1,1–5,03)$).

При исследовании заболеваемости по периодам нахождения в зоне эвакуации у ликвидаторов, участвовавших в работах в 1986 г., отмечен статистически значимо высокий риск развития ХЛЛ ($SIR = 1,3 (1,08–1,49)$) и ХМЛ ($SIR = 1,8 (1,46–2,24)$) и повышенный ($p > 0,05$) риск развития ОЛЛ ($SIR = 1,4 (0,84–2,07)$). У ликвидаторов, участвовавших в работах в 1987 г., наблюдался значимо высокий риск развития только ХЛЛ ($SIR = 1,8 (1,23–2,43)$) и повышенный ($p > 0,05$) риск развития как ОЛЛ ($SIR = 1,8 (0,59–4,23)$), так и ОМЛ ($SIR = 1,4 (0,65–2,5)$). При этом для всех лейкозов в целом отмечалась корреляционная зависимость между показателем SIR и количеством дней после аварии, прошедших до первого въезда в зону эвакуации ($r_s = 1,0, p < 0,01$). Статистическая значимость выявлена и в отношении заболеваемости ХМЛ независимо от времени начала работ после аварии: риск находился в пределах от 1,5 (1,08–2,03) у тех, кто находился в зоне эвакуации в первые 39 дней, до 1,8 (1,27–2,44) у тех, кто прибыл в зону через 100 дней и более. Также для последней группы был показан достоверно высокий риск развития ХЛЛ ($SIR = 1,5 (1,18–1,87)$).

В зависимости от продолжительности работ в зоне ликвидации последствий аварии статистически значимо высокий риск развития отмечался только у ликвидаторов с ХЛЛ и ХМЛ, работавших как 10 дней и меньше (для ХЛЛ $SIR = 1,6 (1,23–2,08)$, для ХМЛ $SIR = 2,0 (1,38–2,91)$), так 10 дней и больше (для ХЛЛ $SIR = 1,2 (1,03–1,46)$, для ХМЛ $SIR = 1,5 (1,2–1,97)$). При этом у ликвидаторов, пробывших в зоне 10 дней и меньше риск заболеть как ХЛЛ, так и ХМЛ был выше, чем у тех, кто проработал в зоне больше 10 дней. Как указывалось выше, при хронических лейкозах формировался высокий риск заболеваемости всеми формами лейкозов в зависимости от продолжительности нахождения ликвидаторов в зоне выполнения работ ($SIR_{\leq 10 \text{ дней}} = 1,5 (1,24–1,79)$ и $SIR_{> 10 \text{ дней}} = 1,3 (1,12–1,41)$). В отличие от ликвидаторов с хроническими лейкозами, у ликвидаторов с ОЛЛ заболеваемость была выше у тех, кто пробыл в зоне радиоактивного загрязнения больше 10 дней.

Анализ зависимости заболеваемости ликвидаторов от плотности загрязнения ^{137}Cs показал значимо высокий риск заболеваемости только ХЛЛ при работах на территориях с плотностью загрязнения 15–39,99 Ки/км² ($SIR = 1,5 (1,15–1,83)$). Однако суммарно для всех лейкозов статистически значимо высокий риск (за счет увеличения количества случаев) отмечался у лиц, занятых на территориях с плотностью загрязнения 15–39,99 Ки/км² ($SIR = 1,3 (1,1–1,53)$) и 40 Ки/км² и выше ($SIR = 1,3 (1,05–1,7)$). При этом сильная прямая корреляционная зависимость выявлена между плотностью загрязнения и риском развития ОМЛ ($r_s = 1, p < 0,01$). Для других локализаций корреляционной зависимости не выявлено.

При проведении радиационно-эпидемиологического анализа риска развития лейкозов особенно значимым является показатель эквивалентной поглощенной дозы на ККМ. Однако нами не установлено четкой корреляционной зависимости между ИД на ККМ и риском развития лейкозов. Для лиц с ХМЛ высокий риск отмечался при всех дозовых интервалах без четкой зависимости доза–эффект. Статистически значимо высокий риск выявлен только у лиц с ХМЛ в диапазоне низких доз (до 20 мЗв) – $SIR = 2,0 (1,12–3,43)$, $p < 0,05$. В то же время у лиц с ИД на ККМ в диапазоне 150–300 мЗв риск достиг достаточно высокого значения ($SIR = 3,4 (0,92–8,65)$), $p > 0,05$). Следует, однако, отметить, что в диапазоне высоких ИД на ККМ (свыше 300 мЗв) количество ликвидаторов составило всего 2 % (при этом установлен только 1 случай ХМЛ), в связи с чем данная выборка является недостаточной для проведения статистического анализа.

Анализ риска развития как лимфом, так и ММ у ликвидаторов показал в основном сопоставимость данных показателей с популяционными уровнями (табл. 3). Статистически значимо высокий показатель стандартизованного соотношения заболеваемости у ликвидаторов отмечался в группе ликвидаторов с ЛХ, выполнявших работы на территориях с плотностью загрязнения 1,0–4,99 Ки/км² ($SIR = 3,9 (1,07–10,07)$), однако при этом выявлена обратная корреляционная зависимость между риском ЛХ и плотностью загрязнения территорий, на которых находился

Таблица 3. Распределение наблюдаемых случаев (Н) лимфом и множественных миелом и показателей стандартизованного соотношения заболеваемости, скорректированных по полу и месту жительства (SIR)

Table 3. Distribution of the observed cases (H) of lymphomas and multiple myeloma, and the standardized incidence ratios (SIR) adjusted by sex and residence place

Показатель	Объем выборки	Локализация					
		ЛХ		НХЛ		ММ	
		Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)	Н	SIR (95 % ДИ)
Женщины	18 518	13	1,2 (0,66–2,11)	39	1,2 (0,85–1,62)	22	1,2 (0,78–1,88)
Мужчины	79 978	59	1,1 (0,83–1,41)	147	1,0 (0,87–1,21)	62	1,1 (0,86–1,44)
Возраст на момент аварии, лет:							
15–19	2846	3	1,1 (0,23–3,21)	1	0,5 (0,01–2,97)	0	0 (0–10,35)
20–24	14 844	13	1,1 (0,59–1,89)	14	1,1 (0,6–1,84)	4	1,3 (0,35–3,33)
25–29	19 790	20	1,5 (0,94–2,38)	22	1,0 (0,66–1,58)	9	1,4 (0,62–2,57)
30–34	17 836	11	1,0 (0,51–1,83)	33	1,3 (0,89–1,82)	10	1,0 (0,5–1,93)
35–39	14 680	10	1,1 (0,55–2,11)	32	1,1 (0,73–1,51)	18	1,3 (0,78–2,09)
40–44	7220	4	1,0 (0,26–2,43)	22	1,1 (0,72–1,74)	9	1,0 (0,46–1,93)
45–49	10 365	8	1,2 (0,54–2,45)	24	0,8 (0,5–1,16)	20	1,3 (0,79–2,01)
50–54	6045	2	0,5 (0,07–1,94)	23	1,2 (0,76–1,81)	11	1,2 (0,6–2,15)
55–59	3772	1	0,4 (0,01–2,1)	15	1,2 (0,65–1,93)	4	0,8 (0,21–1,97)
60–64	821	0	0,0 (0,0–6,89)	0	0,0 (0,0–1,5)	0	0,0 (0,0–3,76)
Год начала работы на загрязненной территории:							
1986	76 163	64	1,2 (0,96–1,6)	152	1,1 (0,89–1,24)	69	1,1 (0,89–1,45)
1987	16 597	7	0,6 (0,26–1,33)	27	1,0 (0,67–1,47)	15	1,4 (0,79–2,32)
1988	3541	1	0,6 (0,01–3,17)	4	1,1 (0,3–2,8)	0	0,0 (0,0–2,7)
1989	1920	0	0,0 (0,0–5,19)	3	2,1 (0,43–6,05)	1	1,9 (0,05–10,62)
Продолжительность нахождения на загрязненной территории, дней:							
≤10	20 754	21	1,6 (0,96–2,38)	42	1,0 (0,72–1,35)	16	0,9 (0,5–1,42)
>10	77 556	51	1,0 (0,74–1,31)	144	1,1 (0,91–1,27)	69	1,3 (0,98–1,6)
Ко-во дней от момента аварии до первого въезда на загрязненную территорию:							
0–39	40145	36	1,3 (0,94–1,85)	77	1,0 (0,76–1,21)	39	1,1 (0,82–1,57)
40–99	17018	13	1,1 (0,6–1,93)	41	1,3 (0,95–1,8)	15	1,2 (0,67–1,96)
≥100	41147	23	0,9 (0,56–1,33)	68	1,0 (0,81–1,32)	31	1,2 (0,8–1,67)
Плотность загрязнения Cs ¹³⁷ территорий, на которых выполнялись работы, Ки/км ² :							
1,0–4,99	1932	4	3,9 (1,07–10,07)*	0	0,0 (0,0–1,46)	3	2,9 (0,6–8,51)
5,0–14,99	14 699	14	1,4 (0,78–2,4)	24	0,9 (0,6–1,4)	8	0,8 (0,33–1,51)
15,0–39,99	35 234	22	0,9 (0,59–1,43)	59	0,9 (0,7–1,18)	24	0,9 (0,57–1,32)
≥40	15 397	7	0,7 (0,27–1,39)	35	1,2 (0,85–1,69)	22	1,8 (1,16–2,8)*
Индивидуализир. поглощенная доза на ККМ и окружающую костную ткань, мЗв:							
<20	9727	5	0,8 (0,25–1,8)	17	0,9 (0,51–1,41)	14	1,7 (0,93–2,86)
20–49	24 108	23	1,4 (0,91–2,15)	46	1,0 (0,74–1,34)	15	0,8 (0,44–1,29)
50–99	7171	7	1,5 (0,59–3,03)	15	1,1 (0,6–1,75)	6	1,0 (0,37–2,18)
100–149	2417	1	0,6 (0,02–3,49)	5	1,0 (0,32–2,28)	6	2,6 (0,96–5,71)
150–300	2015	1	0,7 (0,02–4,1)	4	1,0 (0,26–2,44)	3	1,7 (0,34–4,86)
>300	911	1	1,6 (0,04–8,81)	0	0,0 (0,0–1,92)	1	1,2 (0,03–6,85)

ликвидатор ($r_s = -1,0, p < 0,01$). Также статистически значимо высокий риск отмечался и у ликвидаторов с ММ, работавших на территориях с плотностью загрязнения ¹³⁷Cs 40 Ки/км² и выше (SIR = 1,8 (1,16–2,8)), при этом, в отличие от ЛХ, риск развития ММ был выше у ликвидаторов, проработавших более 10 дней в зоне эвакуации (отчуждения).

Заключение. Проведенная оценка риска развития гемобластозов позволила сделать вывод о присутствии избыточной заболеваемости лейкозами в когорте ликвидаторов аварии на ЧАЭС.

Избыточная фракция лейкозов составила порядка 30 %. Повышенная по сравнению с популяционным уровнем заболеваемость лейкозами, отмечаемая с 1990–1994 гг., сохраняется до настоящего времени. Установлено, что высокий риск развития лейкозов формировался за счет хронических лимфоцитарных и миелоцитарных лейкозов независимо от статуса ликвидатора. Изучение влияния возраста ликвидаторов на момент аварии на величину риска лейкозов не позволило сделать вывод о наличии связи между этими показателями. Риск ХМЛ и ХЛЛ менялся в зависимости от продолжительности пребывания в зоне (риск был выше у тех, кто находился в зоне меньше 10 дней) и повышался при отсрочке времени первого прибытия в зону (наиболее высокий риск отмечался у лиц, участвовавших в работах через 100 дней после аварии). Не получено четкой зависимости между риском гемобластозов и плотностью загрязнения, а также ИД на ККМ. Однако можно констатировать, что треть всех случаев миеломной болезни отмечалась у ликвидаторов, выполнявших работы на территории с плотностью загрязнения ^{137}Cs свыше 40 Ки/км² ($\text{SIR} = 1,8 (1,16–2,8)$).

Таким образом, проведенное исследование позволило охарактеризовать риски развития различных форм ЗНКЛКС у ликвидаторов, однако одним из ограничений данного исследования можно назвать небольшое количество случаев этих заболеваний. По результатам нашего исследования выявлены тенденции в распределении риска развития определенных форм ЗНКЛКС, однако для установления более четких зависимостей желательнее повысить объем анализируемой выборки за счет объединения данных российского, украинского и белорусского регистров.

Список использованных источников

1. Radiation. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. – Lyon: IARC, 2012. – Vol. 100D. – 363 p.
2. Ionizing radiation, part 1: x- and gamma (γ)-radiation, and neutrons. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. – Lyon: IARC, 2000. – Vol. 75. – 492 p.
3. 30 лет чернобыльской аварии: итоги и перспективы преодоления ее последствий. Национальный доклад Республики Беларусь. – Минск: М-во по чрезвычайным ситуациям Респ. Беларусь, 2016. – 116 с.
4. Океанов, А. Е. Заболеваемость раком щитовидной железы в Республике Беларусь / А. Е. Океанов, Е. П. Демидчик, М. А. Анкудович // Радиация и риск. – 1995. – № 6. – С. 236–239.
5. Чешик, А. А. Заболеваемость лейкозами в Республике Беларусь / А. А. Чешик, И. В. Веялкин, А. В. Рожко // Мед.-биол. проблемы жизнедеятельности. – 2016. – № 2 (16). – С. 62–69.
6. Эпидемиология злокачественных новообразований в Беларуси / И. В. Залуцкий [и др.]. – Минск: Зорны верасень, 2006. – 204 с.
7. Океанов, А. Е. Статистика онкологических заболеваний в Республике Беларусь (2004–2013) / А. Е. Океанов, П. И. Моисеев, Л. Ф. Левин; под ред. О. Г. Суконко. – Минск: РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова, 2014. – 382 с.
8. Метод реконструкции индивидуализированных накопленных эквивалентных доз облучения красного костного мозга, включенных в Государственный регистр лиц, подвергшихся воздействию радиации вследствие катастрофы на чернобыльской АЭС, других радиационных аварий: инструкция по применению РНПЦ РМиЭЧ; рег. № 096–0914 / А. В. Рожко [и др.]. – Гомель, 2014. – 14 с.
9. Breslow, N. E. Statistical methods in cancer research. The design and analysis of cohort studies / N. E. Breslow, N. E. Day. – Lyon: IARC, 1987. – Vol. 2. – 404 p.
10. Моисеев, П. И. / Эпидемиология злокачественных новообразований: принципы и методы / П. И. Моисеев, И. В. Веялкин, Ю. Е. Демидчик // Руководство по онкологии: учебник / О. Г. Суконко [и др.]; под ред. О. Г. Суконко. – Минск: Белорус. энцикл. им. П. Бровки, 2015. – Т. 1. – С. 51–82.

References

1. Radiation. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, IARC, 2012, vol. 100D. 363 p.
2. Ionizing radiation, part 1: x- and gamma (γ)-radiation, and neutrons. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, IARC, 2000, vol. 75. 492 p.
3. 30 years after the Chernobyl accident: results and prospects for overcoming its consequences. National report of the Republic of Belarus. Minsk, Ministry of Emergency Situations of the Republic of Belarus, 2016. 116 p. (in Russian).
4. Okeanov A. E., Demidchik E. P., Ankudovich M. A. Thyroid cancer incidence in the Republic of Belarus. *Radiatsiia i risk* [Radiation and Risk], 1995, no. 6, pp. 236–239. (in Russian).
5. Cheshik A. A., Veialkin I. V., Rozhko A. V. Leukemia incidence in the Republic of Belarus. *Mediko-biologicheskie problemy zhiznedeiatel'nosti* [Medical and Biological Problems of Life Activity], 2016, no. 2 (16), pp. 62–69. (in Russian).
6. Zalutskii I. V., Averkin Iu. I., Artemova N. A., Mashevskii A. A. *Epidemiology of Malignant Neoplasms in Belarus*. Minsk, Zornyy verasen, 2006. 204 p. (in Russian).
7. Okeanov A. E., Moiseev P. I., Levin L. F. *Statistics of cancer diseases in the Republic of Belarus (2004–2013)*, in Sukonko O. G. (ed.). Minsk, N. N. Alexandrov National Cancer Center of Belarus, 2014. 382 p. (in Russian).

8. Rozhko A. V., Vlasova N. G., Eventova L. N., Visinberg Iu. V., Mataras A. N., Drozd E. A. *Method for reconstruction of individual accumulated equivalent doses of red bone marrow exposure for persons included in the State Register of people were exposed to radiation due to the Chernobyl disaster and other radiation accidents: Instruksiya po primeneniyu no. 096–0914*. Gomel, 2014. 14 p. (in Russian).

9. Breslow N. E., Day N. E. *Statistical methods in cancer research. The design and analysis of cohort studies*. Lyon, IARC, 1987, vol. 2. 404 p.

10. Moiseev P. I., Veialkin I. V., Demidchik Iu. E. *Epidemiology of malignant neoplasms: principles and methods. Manual on oncology*, in Sukonko O. G. (ed.). Minsk, 2015, vol. 1, pp. 51–82. (in Russian).

Информация об авторах

Рожко Александр Валентинович – д-р мед. наук, доцент, директор. Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (ул. Ильича, 290, 246040, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: rcrm@tut.by.

Чешик Андрей Анатольевич – заведующий отделением. Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (ул. Ильича, 290, 246040, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: acheshik@tut.by.

Веялкин Илья Владимирович – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (ул. Ильича, 290, 246040, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: veyalkin@mail.ru.

Никонович Сергей Николаевич – ст. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (ул. Ильича, 290, 246040, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: snikonovich@gmail.com.

Information about the authors

Alexander V. Rozhko – D. Sc. (Med.), Assistant Professor, Director. Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology (290, Ilyich St., 246040, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: rcrm@tut.by

Andrey A. Cheshik – Head of the Department. Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology (290, Ilyich St., 246040, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: acheshik@tut.by.

Ilya V. Veyalkin – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor, Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology (290, Ilyich St., 246040, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: veyalkin@mail.ru.

Sergey N. Nikonovich – Senior researcher. Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology (290, Ilyich St., 246040, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: snikonovich@gmail.com.

**Т. В. Амвросьева¹, З. Ф. Богуш¹, Н. М. Бискина², Н. В. Поклонская¹,
С. К. Лозюк¹, О. Н. Казинец¹**

¹Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
Минск, Республика Беларусь

²Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья,
Минск, Республика Беларусь

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭТИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭНТЕРОВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Аннотация. В статье проанализировано современное состояние проблемы неполиомиелитных энтеровирусных инфекций (ЭВИ) человека в Беларуси. Изложены клинико-эпидемиологические особенности развития эпидпроцесса, представлена динамика заболеваемости за истекшее десятилетие, описана структура зарегистрированных в последние годы ЭВИ в разрезе административных территорий, клинических форм, возрастных групп, влияния сезонных факторов. Проанализированы результаты лабораторного контроля циркуляции возбудителей в 2016 г. Установлена интенсивность циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов среди населения и уровни энтеровирусного загрязнения объектов окружающей среды, описаны их спектр и типовая структура. Приведены данные филогенетического анализа новых для республики серотипов и геновариантов.

Ключевые слова: энтеровирусные инфекции, заболеваемость, эпидемиологический надзор, клинические формы, возрастной состав, неполиомиелитные энтеровирусы, лабораторный контроль, спектр, типовая структура

Для цитирования: Клинико-эпидемиологические и этиологические характеристики энтеровирусных инфекций в Республике Беларусь / Т. В. Амвросьева [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 3. – С. 91–99.

T. V. Amvrosieva¹, Z. F. Bohush¹, N. M. Biskina², N. V. Paklonskaya¹, S. K. Lozyuk¹, O. N. Kazinets¹

¹Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

²Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Republic of Belarus

CLINICAL, EPIDEMIOLOGICAL AND ETIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE ENTEROVIRAL INFECTIONS IN THE REPUBLIC OF BELARUS

Abstract. The article analyzes the current state of human non-polio enteroviral infections in Belarus. The analysis includes clinical and epidemiologic features of the epidemic process, the dynamics of incidence over the past decade, the structure of clinical forms in various regions of the country, age groups, as well as an influence of seasonal factors on the enteroviral morbidity. The article contains the results of laboratory control of enterovirus circulation in the Republic of Belarus in 2016. The intensity of non-polio enterovirus (NPEV) circulation and the levels of environmental contamination were identified. The study describes the range and typical structure of NPEV circulating in the country in the period under review. The article contains the data of the phylogenetic analysis of new serotypes and genovariants.

Keywords: enteroviral infection, incidence, epidemiological surveillance, clinical form, age group, non-polio enteroviruses, laboratory control

For citation: Amvrosieva T. V., Bohush Z. F., Biskina N. M., Paklonskaya N. V., Lozyuk S. K., Kazinets O. N. Clinical, epidemiological and etiological characteristics of the enteroviral infections in the Republic of Belarus. *Vesti Natsyonal'nai akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 91–99 (in Russian).

Введение. Энтеровирусные инфекции (ЭВИ) являются многочисленной и весьма разнообразной по своим клиническим проявлениям группой инфекционных болезней, для которых характерны как постоянно регистрируемая спорадическая заболеваемость с сезонными подъемами, так и возникающие с определенной цикличностью обострения эпидситуации в виде вспышек и эпидемий.

В 2016 г. энтеровирусные вспышки с развитием тяжелых клинических форм (менингитов, менингоэнцефалитов и других нейроинфекций) имели место в ряде европейских стран (Нидерланды, Испания, Ирландия, Великобритания, Германия, Португалия и др.), а также в США и Корею [1–6].

Таблица 1. Осложнения эпидситуации по ЭВИ в мире в 2016 г.

Table 1. Aggravation of the epidemiological situation of enteroviral infections in 2016 around the world

Страна	Основная клиническая форма	К-во пострадавших	Возбудитель
Нидерланды	Дыхательная недостаточность, острый вялый миелит	25 (17 – дети)	ЭВД68
Испания (Каталония)	ЭВИ, тяжелые неврологические формы, острый вялый паралич, энцефалит	87 (дети от 3 мес. до 8 лет)	ЭВА71
Тайвань	ЭВИ	21	ЭВА71, KB5
Россия (Хабаровский край, Самарская, Тамбовская, Ростовская, Свердловская, Вологодская области, Приамурье, Байкал)	ЭВИ, серозно-вирусный менингит	943 (139 – серозный менингит)	ЭВ
Ирландия	Вирусный менингит, вирусный энцефалит	234 (201 – вирусный менингит, 33 – вирусный энцефалит)	ЭВ
Великобритания (Уэльс)	ЭВИ	Н/д	ЭВД68
Италия	ЭВИ, острый вялый паралич	Н/д	ЭВД68, E6
Португалия	ЭВИ	Н/д	ЭВД68, ЭВА71, КА9
Германия	Асептический менингит	1221	ЭВА71; ЭВД68; E 6, 7, 9, 18, 25, 30; КА6, КА9; KB4, KB5
Дания	ЭВИ, менингит, энцефалит, foot and mouth disease (HFMD), сыпь	9	ЭВА71
Швеция	Менинго-энцефалиты	40	ЭВА71, E30, KB5
Корея	Интенсивный рост HFMD	Н/д	Н/д
США	Ограниченные спорадические случаи ЭВИ	Н/д	ЭВД68
Украина (Харьковская область, г. Люботин)	Серозный менингит	Н/д (дети школьного возраста)	ЭВ

Примечание. E – вирус ЕСНО, KB – вирус Коксаки B, КА – вирус Коксаки А, ЭВ – энтеровирус, Н/д – нет данных.

Осенью 2016 г. вспышки энтеровирусных менингитов зарегистрированы в разных регионах России и в Украине (табл. 1) [7–11].

ЭВИ представляют серьезную проблему здравоохранения и в Республике Беларусь [12–14]. Они относятся к вакцинонеуправляемым инфекциям, что обуславливает особую актуальность эпидемиологического надзора и лабораторного контроля за ними. Начиная с 2003 г. в нашей стране организован систематический учет заболеваемости ЭВИ. С 2008 г. проводятся государственный статистический учет и отчетность по 5 нозологическим формам: энтеровирусному энцефалиту, энтеровирусному менингиту, энтеровирусному гастроэнтериту, энтеровирусному везикулярному фарингиту, прочим формам ЭВИ.

Цель работы – анализ сложившейся в 2016 г. эпидситуации по энтеровирусным инфекциям неполиомиелитной природы на территории Беларуси с изложением клинко-эпидемиологических особенностей развития, описанием структуры заболеваемости в разрезе административных территорий, клинических форм, возрастных групп, влияния сезонных факторов, а также этиологии и молекулярно-эпидемиологических характеристик доминирующих возбудителей.

Результаты и их обсуждение. Многолетние динамические наблюдения (2008–2016 гг.) за заболеваемостью ЭВИ (рис. 1) свидетельствуют о цикличности развития эпидемического процесса. Так, после умеренного роста заболеваемости в 2008–2009 гг. период 2010–2011 гг. был относительно эпидемически благополучным. Начиная с 2012 г. интенсивность эпидемического процесса неуклонно росла вплоть до 2014 г.

В 2015 г. зарегистрирован очередной циклический спад. Показатель заболеваемости всеми регистрируемыми формами ЭВИ при пересчете на 100 тыс. населения составил 14,0. В 2016 г.

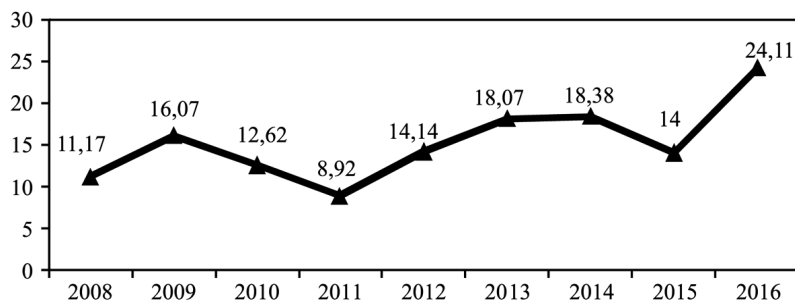


Рис. 1. Динамика заболеваемости ЭВИ за 2008–2016 гг. (на 100 тыс. населения)

Fig. 1. Dynamics of enteroviral infections during 2008–2016 (per 100 thousands of population)

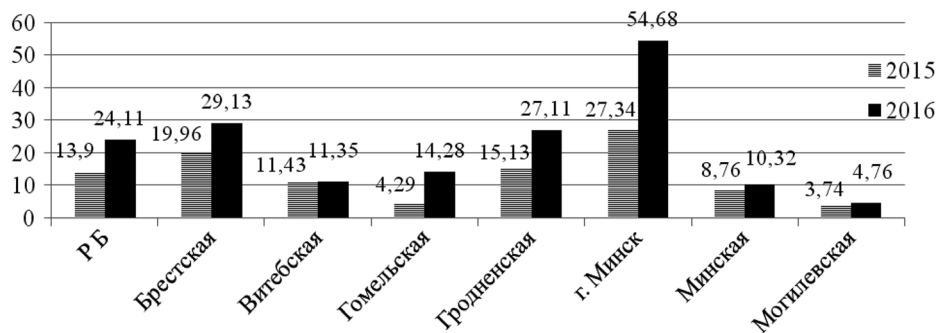


Рис. 2. Сравнительная заболеваемость ЭВИ в разрезе административных территорий и Республики Беларусь за 2015–2016 гг. (на 100 тыс. населения)

Fig. 2. Comparative incidence of enteroviral infections in the administrative territories and in the Republic of Belarus during 2015–2016 (per 100 thousands of population)

этот показатель зарегистрирован на уровне 24,11, что свидетельствовало об увеличении интенсивности инфекционного процесса в 1,7 раза. В целом заболеваемость ЭВИ в Республике Беларусь с 2008 г. имела умеренную тенденцию к росту со средним темпом +6,8 %.

Разброс показателей заболеваемости ЭВИ на 100 тыс. населения в разрезе административных территорий Республики Беларусь составил от 4,76 в Могилевской области до 54,68 в г. Минске (рис. 2). Наиболее высокий уровень заболеваемости зарегистрирован в г. Минске (в 2016 г. он был в 2,2 раза выше республиканского). Превышение республиканского уровня отмечено также в Брестской и Гродненской областях (показатели составили 29,13 и 27,11 соответственно на 100 тыс. населения). Показатели заболеваемости в других областях были ниже республиканского.

Анализ показателей заболеваемости в 2016 г. показал их рост по сравнению с 2015 г. во всех областях республики, за исключением Витебской, от 17 % (Минская область) до 3,3 раза (Гомельская область).

В структуре клинических форм ЭВИ в 2016 г. вклад энтеровирусных гастроэнтеритов составил 36,6 %, фарингитов – 40,0, прочих форм – 18,5 %. На долю энтеровирусных менингитов и энцефалитов пришлось 4,4 и 0,4 % соответственно. По сравнению с предыдущим годом нозологическая структура ЭВИ характеризовалась увеличением удельного веса гастроэнтеритов на 4,8 %, менингитов – на 0,4, энцефалитов – на 0,1 % и снижением фарингитов на 5,5 %.

В структуре клинических форм ЭВИ в разрезе административных территорий в 2016 г. энтеровирусные гастроэнтериты преобладали в Брестской области, г. Минске, Гродненской и Минской областях (39; 19,5; 13,2 и 10,5 % соответственно), энтеровирусные менингиты – в Гомельской области и г. Минске (49,5 и 30,6 %), энтеровирусные фарингиты – в г. Минске и Гродненской области (71,6 и 15 %), прочие формы – в г. Минске и Витебской области (51,5 и 13,9 %).

В возрастной структуре ЭВИ в 2016 г. преобладали дети до 14 лет – 86 %. При этом дети в возрасте до 1 года составили 22 %; 1–2 года – 38,4; 3–6 лет – 26; 7–14 лет – 13,6 % (рис. 3). Заболеваемость легкими клиническими формами (фарингиты, гастроэнтериты, прочие ЭВИ) была выше

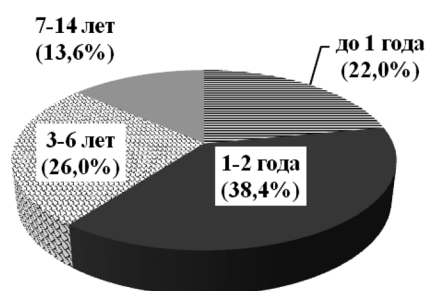


Рис. 3. Возрастная структура детской заболеваемости ЭВИ в Республике Беларусь в 2016 г.

Fig. 3. Age structure of the infant incidence of enteroviral infections in the Republic of Belarus in 2016

у детей до 2 лет, неврологическими формами (менингиты, энцефалиты) – у детей 3–6 и 7–14 лет. У взрослых лиц наиболее часто встречались энтеровирусные гастроэнтериты (табл. 2).

В 2016 г. по сравнению с предыдущим годом во всех возрастных группах населения отмечался рост показателей заболеваемости практически по всем нозологическим формам ЭВИ. Так, у детей до года выросла заболеваемость менингитами (от 1,8 до 3,5 случая), фарингитами (от 121,4 до 189,1), прочими формами (от 27,3 до 53,7), гастроэнтеритами (от 65,08 до 135,44), случаев заболеваемости энтеровирусными энцефалитами не выявлено. У детей в возрасте 1–2 года отмечался рост заболеваемости фарингитами (от 109,1 до 159,9), прочими формами ЭВИ (от 25,4 до 54,1), гастроэнтеритами (от 58,3 до 107,9), зарегистрирован 1 случай энцефалита. Среди детей 3–6 лет – рост заболеваемости менингитами (от 2,9 до 6,0), фарингитами (от 29,6 до 49,0), прочими формами ЭВИ (от 11,6 до 22,3), гастроэнтеритами (от 17,2 до 35,6), энцефалитами (от отсутствия заболеваемости до 0,7). У детей 7–14 лет – рост заболеваемости менингитами (от 1,7 до 6,0), фарингитами (от 6,3 до 8,8), прочими формами ЭВИ (от 4,6 до 6,4), энцефалитами (от 0,1 до 0,3) и снижение заболеваемости гастроэнтеритами (с 17,1 до 11,8).

ми (от 29,6 до 49,0), прочими формами ЭВИ (от 11,6 до 22,3), гастроэнтеритами (от 17,2 до 35,6), энцефалитами (от отсутствия заболеваемости до 0,7). У детей 7–14 лет – рост заболеваемости менингитами (от 1,7 до 6,0), фарингитами (от 6,3 до 8,8), прочими формами ЭВИ (от 4,6 до 6,4), энцефалитами (от 0,1 до 0,3) и снижение заболеваемости гастроэнтеритами (с 17,1 до 11,8).

Таблица 2. Заболеваемость в разрезе нозологических форм ЭВИ по возрастным группам за 2015–2016 гг. (на 100 тыс. возрастной группы)

Table 2. Incidence in the nosological forms of enteroviral infections according to age groups during 2015–2016 (per 100 thousands of age group)

Нозологическая форма	К-во случаев заболеваемости у детей									
	до 1 года		1–2 года		3–6 лет		7–14 лет		15 лет и старше	
	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016
Гастроэнтерит	65,1	135,4	58,3	107,9	17,2	35,6	17,1	11,8	1,4	2,2
Фарингит	121,4	189,1	109,1	159,9	29,6	49,0	6,3	8,8	0,3	0,5
Прочие ЭВИ	27,3	53,7	25,4	54,1	11,6	22,3	4,6	6,4	0,9	1,0
Менингит	1,8	3,5	0,4	0	2,9	6,0	1,7	6,0	0,3	0,3
Энцефалит	0,9	0	0	0,4	0	0,7	0,1	0,3	0,02	0,03

Как известно, ЭВИ имеет летне-осеннюю сезонность (с июня по ноябрь). Однако 2016 г. в Республике Беларусь подъем заболеваемости начался раньше обычного сезонного – с апреля, при этом удельный вес заболеваний, обусловленных влиянием сезонных факторов, в 2016 г. по сравнению с 2015 г. не изменился, составив 31 %. Всего различными клиническими формами ЭВИ в 2016 г. заболело 2278 человек (в 2015 г. – 1322). Наиболее высокие значения показателей фактической заболеваемости ЭВИ в 2016 г. зарегистрированы с августа по ноябрь, максимальные – в сентябре–октябре. Всплеск заболеваемости энтеровирусными менингитами отмечался в этот же период (рис. 4).

В ходе проведенных в 2016 г. на территории Республики Беларусь диагностических исследований на наличие маркеров неполиомиелитных энтеровирусов (НПЭВ) проанализировано 21 814 проб

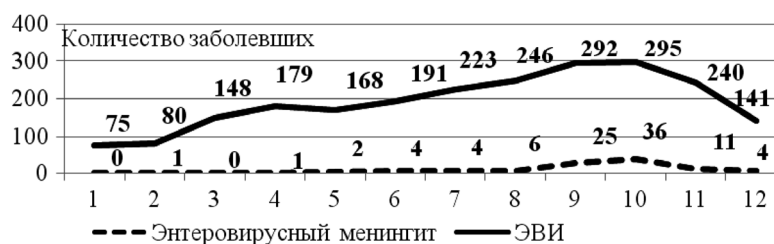


Рис. 4. Фактическая заболеваемость ЭВИ и энтеровирусными менингитами в Республике Беларусь ежемесячно за 2016 г.

Fig. 4. Actual incidence of enteroviral infections and enterovirus meningitis in the Republic of Belarus monthly in 2016

клинического материала, из которых положительными оказались 19,36 %. Интенсивность циркуляции НПЭВ среди населения по сравнению с таковой в 2015 г. увеличилась на 62,7 % и составила 19,36 % (в 2015 г. – 11,9 %).

В разрезе регионов частота выявления маркеров НПЭВ в клиническом материале практически на всех административных территориях имела тенденцию к росту. Максимально высокие их уровни зарегистрированы в Гродненской области (47,8 %) и г. Минске (38,35 %). Интенсивность циркуляции НПЭВ на территории Гомельской области в 2016 г. по сравнению с 2015 г. увеличилась в 3 раза (от 4,25 до 12,65 %). В Витебской, Минской и Брестской областях она имела менее выраженную тенденцию к росту, составив 22,22; 21,72 и 14,16 % соответственно (в 2015 г. – 15,63; 20,96 и 10,35), а на территории Могилевского региона отмечалось ее снижение (с 1,71 % в 2015 г. до 1,48 % в 2016 г.).

В порядке государственного санитарного надзора за НПЭВ в 2016 г. исследовано 6 249 проб, отобранных из объектов окружающей среды, включая различные виды вод (вода водопроводная – 1913 проб, вода открытых водоемов – 374, вода бассейнов и зон рекреации – 348, вода водоисточников – 250, вода колодцев – 74 и вода сточная – 1600), смывы с объектов и предметов среды обитания человека – 832, пищевые продукты – 858. При исследовании их на наличие энтеровирусных антигенов положительными оказались 0,74 %.

Максимальные уровни энтеровирусного загрязнения объектов окружающей среды зарегистрированы в Гродненской (2,79 %) и Брестской (1,64 %) областях, а также в г. Минске (1,0 %). В Могилевской области данный показатель составил 0,29 %, в Витебской – 0,15, в Гомельской – 0,13 %. В Минской области контаминации объектов окружающей среды НПЭВ не зарегистрировано.

В ходе проведенных в 2016 г. клинических и санитарно-вирусологических исследований установлена циркуляция трех серогрупп НПЭВ: Коксаки В (серотипы 3,4,5), Коксаки А (серотип 9) и ЕСНО (серотипы 3, 6, 7, 9, 16, 19).

В типовой структуре выявленных возбудителей ЭВИ доминировали вирусы ЕСНО, которые составили 51,7 %. На долю вирусов Коксаки В пришлось 32,8 %, Коксаки А – 1,7 %. Вирусы с неустановленным серотипом составили 13,8 % (рис. 5).

В 2016 г., как и в предшествующем, продолжалась циркуляция вирусов Коксаки В серотипов 3, 4 и 5 с увеличением удельного веса Коксаки В3 (до 13,8 % по сравнению с 9,6 % в 2015 г.), Коксаки В4 (от 2,4 % в 2015 г. до 6,9 %) и снижением доли Коксаки В5 (12,1 % против 21,7 % в 2015 г.). Из представителей Коксаки А вирусов по-прежнему отмечалась циркуляция только одного серотипа – Коксаки А9.

Из особенностей типовой циркуляции НПЭВ в этот период следует отметить смену доминирующих групп. Так, если в 2015 г. с небольшим перевесом лидировали представители Коксаки В вирусов (на их долю приходилось 39,8 %), то в 2016 г. возросла доля ЕСНО вирусов (51,7 %). Среди них, наряду с продолжением циркуляции ЕСНО 3, 6 и 16, появились новые для республики серотипы – ЕСНО 7, 9 и 19. При этом вирусы ЕСНО 9 имели максимальный удельный вес в общем пуле всех зарегистрированных по стране НПЭВ – 20,7 %.

Вирусы ЕСНО 6 (Витебская область и г. Минск) и Коксаки В5 (Витебская и Могилевская области) изолированы на этих территориях как из внешней среды, так и из клинического материала (табл. 3). Кроме того, вирусы Коксаки В5 циркулировали среди населения Гомельской области, а вирусы ЕСНО 6 – среди населения Могилевской. Циркуляция вирусов Коксаки В3 выявлена в человеческой популяции Брестской и Могилевской областей, Коксаки В4 – Могилевской и Гродненской областей, ЕСНО 9 – Гомельской, Могилевской и Минской областей, ЕСНО 16 – Гомельской и Могилевской областей. На территории Витебской области из клинического материала изолированы вирусы ЕСНО 7 и ЕСНО 3,

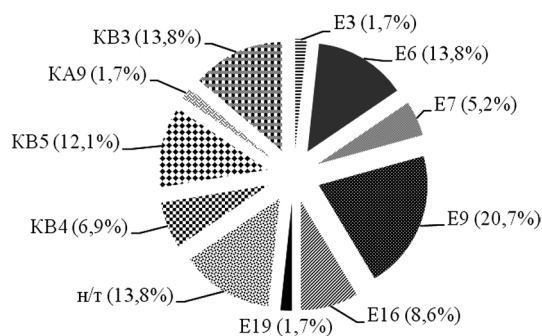


Рис. 5. Спектр и типовая структура НПЭВ, выделенных в 2016 г.

Fig. 5. Spectrum and the typical structure of non-polio enteroviruses identified in 2016

Таблица 3. Спектр и количество НПЭВ, идентифицированных в регионах Республики Беларусь в 2016 г.

Table 3. Spectrum and the number of non-polio enteroviruses identified in the regions of the Republic of Belarus in 2016

Источник выделения ЭВ	Регион						
	Витебский	Гомельский	Минский	Брестский	Могилевский	Гродненский	г. Минск
Внешняя среда	E6 (n = 1) KB5 (n = 1)				KB5 (n = 1) H/T (n = 1)		E6 (n = 3)
Клинический материал	E3 (n = 1) E6 (n = 1) E7 (n = 3) KB5 (n = 2)	KB5 (n = 2) E9 (n = 8) E16 (n = 4) E19 (n = 1) H/T (n = 3)	H/T (n = 1)	KB3 (n = 7) H/T (n = 1)	E6 (n = 1) E9 (n = 1) E16 (n = 1) KB4 (n = 2) KB5 (n =) KB3 (n = 1)	KB4 (n = 2)	E6 (n = 2) E9 (n = 3) KA9 (n = 1) H/T (n = 2)

Примечание. E – вирус ЕСНО, KB – вирус Коксаки В, KA – вирус Коксаки А, H/T – ЭВ с неустановленным серотипом.

на территории Гомельской области – вирусы ЕСНО 19, а в столичном регионе – Коксаки А9. Из относительно новых серотипов НПЭВ, регистрация которых в стране не отмечалась в течение ряда лет, зафиксированы вирусы ЕСНО 7, 9 и 19.

В связи с тем что полноценные НПЭВ далеко не всегда удавалось выделить из образцов спинномозговой жидкости пациентов с тяжелыми неврологическими формами ЭВИ, проведено прямое молекулярное типирование ЭВ клинического материала, без их выделения в культуре клеток. Результаты молекулярного типирования 22 изолятов ЭВ от пациентов с тяжелыми неврологическими формами ЭВИ представлены на рис. 6. Из рисунка видно, что среди возбудителей неврологических форм ЭВИ доминировали вирусы ЕСНО 9 (59,0%). В результате проведенного их филогенетического анализа идентифицировано 4 генетических варианта (рис. 7). Один из этих геновариантов (L2) имел 97% сходства с вирусами ЕСНО 9, циркулировавшими в России в 2009 г. Следует особо отметить, что данный геновариант идентифицирован у пациентов Могилевской области, в которой не отмечалось значительного подъема заболеваемости энтеровирусным менингитом. Кроме того, он имел 93% сходства с ранее циркулировавшими (в 2013 г.) в Беларуси вирусами ЕСНО 9. Исходя из этого, можно предположить, что данный геновариант уже достаточно длительное время циркулировал на территории нашей страны и России, вызывая sporadическую заболеваемость ЭВИ. Другой геновариант ЕСНО 9 (L1), идентифицированный на территории Гомельской области, обладал 95% генетического родства с вирусами ЕСНО 9, вызывавшими заболеваемость менингоэнцефалитами в 2009 г. в Шри-Ланке, что указывало на его высокую вирулентность. Остальные два геноварианта ЕСНО 9 (K1 и ω) не имели значительной степени сходства с представленными в базе данных вирусами, циркулировавшими в других странах мира (максимальная степень генетического родства составила не более 92%). Один из них был наи-

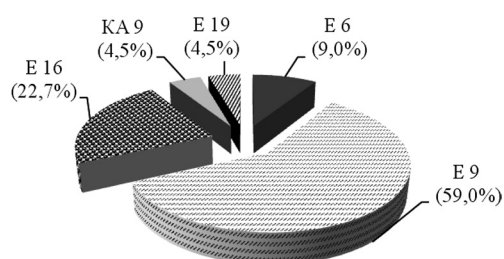


Рис. 6. Результаты молекулярного типирования ЭВ, обнаруженных у пациентов с тяжелыми неврологическими формами ЭВИ

Fig. 6. Results of the molecular typical structure of NPEV identified in patients with severe enteroviral infections

более близок к вирусам, циркулировавшим в прошлые годы в Европейском регионе (Испания, 2003; Нидерланды, 2009); второй обнаруживал максимальное сходство с вирусами, циркулировавшими в 2003 г. в Бразилии и не имел сколько-нибудь значимого сходства с представленными в международном генбанке современными изолятами этого серотипа. Полученные результаты свидетельствуют о том, что 3 из 4 идентифицированных геновариантов ЕСНО 9 были относительно новыми как для нашей страны, так и в мировом масштабе. Эти новые геноварианты вируса ЕСНО 9 являлись этиологическими агентами тяжелых форм ЭВИ (менингитов и менингоэнцефалитов, в том числе протекающих по типу

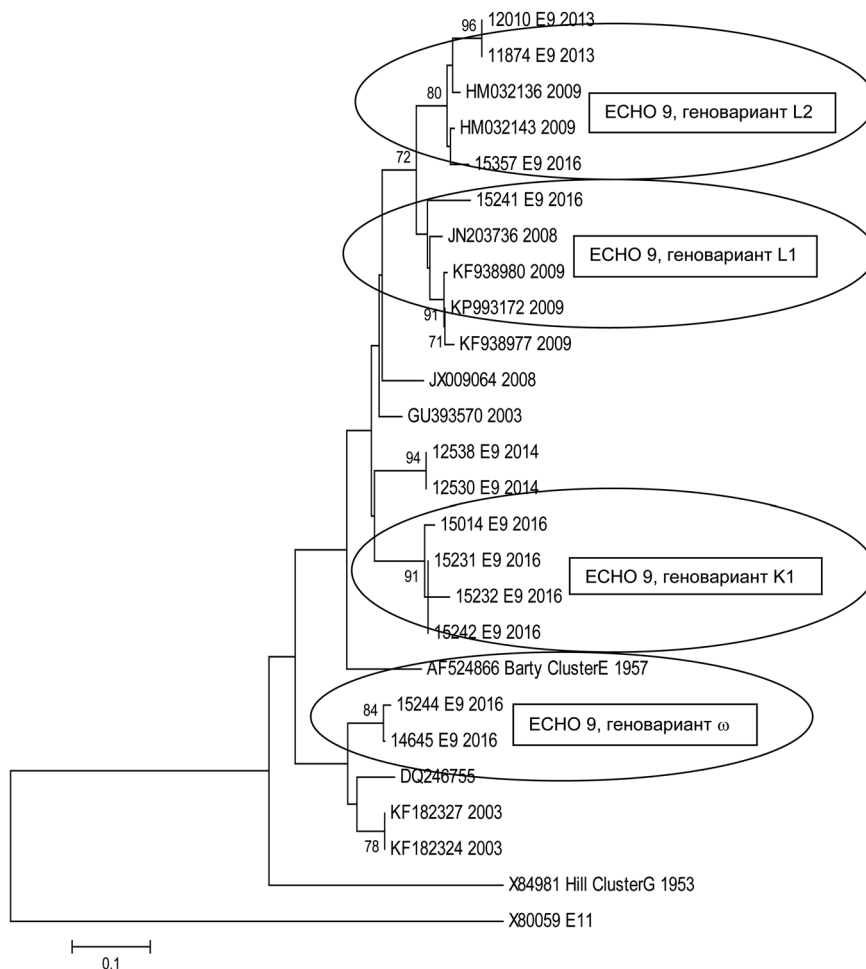


Рис. 7. Филогенетическое древо штаммов ЕСНО 9, циркулировавших в Республике Беларусь в 2016 г., и наиболее сходных с ними вирусов из других стран мира

Fig. 7. Phylogenetic tree of ECHO 9 strains circulating in the Republic of Belarus in 2016 and the viruses most similar to them from other countries of the world

острых вялых параличей), зарегистрированных летом – осенью 2016 г. на территории Гомельской области и г. Минска.

Вирусы ЕСНО 16 принадлежали к геноварианту, который обладал значительным сходством (97 %) с вирусами, циркулировавшими на территории КНР в 2009–2010 гг. По наблюдениям последних лет, такая ситуация достаточно часто имела место – геноварианты, которые формируются в результате крупных вспышек ЭВИ в Китае, впоследствии распространяются через территорию сопредельных стран и спустя несколько лет появляются на территории нашей страны.

Вирусы Коксаки А9 также были представлены новым для нашей страны геновариантом. Так, если в 2013 г. в Республике Беларусь циркулировал геновариант Коксаки А9 GIb, а в 2014–2015 гг. – геновариант Коксаки А9 GIa, то в 2016 г. имела место циркуляция геноварианта Коксаки А9 GIИ.

Заключение. В нашей стране в 2016 г. выявлены следующие особенности развития эпидемиологического процесса ЭВИ неполиомиелитной природы:

- циклический подъем заболеваемости и ее рост в 1,7 раза;
- увеличение в общей структуре заболеваемости удельного веса гастроэнтеритов (на 4,8 %), менингитов (на 0,4 %), энцефалитов (на 0,1 %) и снижение доли фарингитов (на 5,5 %);
- регистрация тяжелых нейроинфекций, в том числе вызванных новыми, не зарегистрированными в международном генбанке, геновариантами вируса ЕСНО 9;
- вовлечение в эпидемический процесс детей преимущественно в возрасте до 14 лет;
- нетипичное для сезонного, более раннее начало подъема заболеваемости (апрель) с традиционным пиком в октябре–ноябре;

смена доминирующих возбудителей;

выраженная генетическая гетерогенность популяции серотипов НПЭВ, включающих как различные геноварианты ранее циркулировавших возбудителей (ЕСНО 16, Коксаки А9), так и относительно новых для республики вирусов, которые в предшествующий период не регистрировались (ЕСНО 7, 9 и 19).

Список использованных источников

1. Rapid Risk Assessment – Enterovirus detections associated with severe neurological symptoms in children and adults in European countries, 8 August 2016 [Electronic resource] // European Centre for Disease Prevention and Control. – Mode of access: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/01-08-2016-RRA-Enterovirus%2071-Spain,%20France,%20Netherlands.pdf>. – Date of access: 09.02.2017.
2. Tres nens catalans estan hospitalitzats per enterovirus, un d'ells a l'UCI 2016 [Electronic resource] // VilaWeb. – Mode of access: <http://www.vilaweb.cat/noticies/tres-nens-catalans-estan-hospitalitzats-per-enterovirus-un-dells-a-luci/>. – Date of access: 09.02.2017.
3. Hand, Foot, and Mouth Disease Situation Update Number 493. 26 July 2016. Surveillance summary in the Western Pacific Region. 2016 [Electronic resource] // World Health Organization. – Mode of access: http://www.wpro.who.int/emerging_diseases/hfmd_biweekly_20160726.pdf. – Date of access: 09.02.2017.
4. AFM Surveillance: CDC; 2016 (cited 2016 3 August) [Electronic resource] // Centers for Disease Control and Prevention. – Mode of access: <http://www.cdc.gov/acute-flaccid-myelitis/afm-surveillance.html>. – Date of access: 09.02.2017.
5. Enterovirus D68 2016 ([updated 19 July 2016, 3 August 2016) [Electronic resource] // Centers for Disease Control and Prevention. – Mode of access: <http://www.cdc.gov/non-polio-enterovirus/about/ev-d68.html#outbreak>. – Date of access: 09.02.2017.
6. Herriman, R. Taiwan: Salmonella outbreak, dengue fever and the 1st enterovirus death [Electronic resource] / R. Herriman // Outbreak News Today. – Mode of access: <http://outbreaknewstoday.com/taiwan-salmonella-outbreak-dengue-fever-and-the-1st-enterovirus-death-75879/>. – Date of access: 09.02.2017.
7. В Оренбурге растет число заболевших менингитом [Электронный ресурс] // Аргументы и факты. – 2016. – 19 июля. – Режим доступа: http://www.oren.aif.ru/health/medicine/v_orenburge_rastet_chislo_zabolevshih_meningitom. – Дата доступа: 09.02.2017.
8. Шаповалова, Ю. В Облздраве прокомментировали случаи заболевания менингитом в Люботине [Электронный ресурс] / Ю. Шаповалова // Объектив: медиа группа: [сайт]. – Режим доступа: <http://www.objectiv.tv/071016/133888.html>. – Дата доступа: 09.02.2017.
9. В Тамбовской области отмечены случаи заболевания серозным менингитом [Электронный ресурс] // Интерфакс-Россия. – 2016. – 9 авг. – Режим доступа: <http://www.interfax-russia.ru/Center/news.asp?id=752526&sec=1671>. – Дата доступа: 09.02.2017.
10. Под Хабаровском в детском лагере произошла вспышка менингита [Электронный ресурс] // РИА Новости. – 2016. – 3 авг. – Режим доступа: <http://ria.ru/incidents/20160803/1473501223.html>. – Дата доступа: 09.02.2017.
11. Канашина, А. Сургутские дети привезли из отпуска энтеровирус. Директор депздрава Югры призывает не паниковать [Электронный ресурс] / А. Канашина // Ugra-news. ru. – 2016. – 29 июля. – Режим доступа: <http://ugra-news.ru/article/29072016/34352>. – Дата доступа: 09.02.2017.
12. Амвросьева, Т. В. Вода – как эпидемически значимый фактор передачи вирусных инфекций / Т. В. Амвросьева, З. Ф. Богуш // Наука, образование, производство в решении экологических проблем (Экология-2011): сб. науч. ст. 8-й Междунар. науч.-техн. конф. / Уфим. гос. авиац. техн. ун-т. – Уфа, 2011. – Т. 2. – С. 231–236.
13. Молекулярно-эпидемиологический анализ неполиомиелитных энтеровирусов, доминирующих в Беларуси в 2012–2013 гг. / Н. В. Поклонская [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2014. – № 4. – С. 58–64.
14. Особенности циркуляции возбудителей энтеровирусных инфекций в Республике Беларусь в 2014–2015 годах / З. Ф. Богуш [и др.] // Мед. новости. – 2016. – № 12. – С. 59–63.

References

1. Rapid Risk Assessment – Enterovirus detections associated with severe neurological symptoms in children and adults in European countries, 8 August 2016. *European Centre for Disease Prevention and Control*. Available at: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/01-08-2016-RRA-Enterovirus%2071-Spain,%20France,%20Netherlands.pdf> (accessed: 09.02.2017).
2. Tres nens catalans estan hospitalitzats per enterovirus, un d'ells a l'UCI 2016. *VilaWeb*. Available at: <http://www.vilaweb.cat/noticies/tres-nens-catalans-estan-hospitalitzats-per-enterovirus-un-dells-a-luci/> (accessed: 09.02.2017).
3. Hand, Foot, and Mouth Disease Situation Update Number 493. 26 July 2016. Surveillance summary in the Western Pacific Region. 2016. *World Health Organization*. Available at: http://www.wpro.who.int/emerging_diseases/hfmd_biweekly_20160726.pdf (accessed: 09.02.2017).
4. AFM Surveillance: CDC; 2016 (cited 2016 3 August). *Centers for Disease Control and Prevention*. Available at: <http://www.cdc.gov/acute-flaccid-myelitis/afm-surveillance.html> (accessed: 09.02.2017).

5. Enterovirus D68 2016 ([updated 19 July 2016, 3 August 2016]. *Centers for Disease Control and Prevention*. Available at: <http://www.cdc.gov/non-polio-enterovirus/about/ev-d68.html#outbreak> (accessed: 09.02.2017).
6. Herriman R. Taiwan: Salmonella outbreak, dengue fever and the 1st enterovirus death. *Outbreak News Today*. Available at: <http://outbreaknewstoday.com/taiwan-salmonella-outbreak-dengue-fever-and-the-1st-enterovirus-death-75879/> (accessed: 09.02.2017).
7. The number of cases of meningitis increases in Orenburg. *Argumenty i fakty* [Arguments and Facts], 19.07.2016. Available at: http://www.oren.aif.ru/health/medicine/v_orenburge_rastet_chislo_zabolevshih_meningitom (accessed: 09.02.2017). (in Russian).
8. Shapovalova Iu. In Oblzdrave commented on cases of meningitis in Lyubotin. *Ob'ektiv: media gruppa* [Objective: media group], 2016. Available at: <http://www.objectiv.tv/071016/133888.html> (accessed: 09.02.2017). (in Russian).
9. In the Tambov region, cases of serous meningitis. *Interfaks-Rossia* [Interfax-Russia], 09.08.2016. Available at: <http://www.interfax-russia.ru/Center/news.asp?id=752526&sec=1671> (accessed: 09.02.2017). (in Russian).
10. An outbreak of meningitis occurred in the children's camp near Khabarovsk. *RIA Novosti* [RIA News], 03.08.2016. Available at: <http://ria.ru/incidents/20160803/1473501223.html> (accessed: 09.02.2017). (in Russian).
11. Kanashina A. Surgut children brought from the leave enterovirus. The director of depzdrava Ugra calls not to panic. *Ugra-news.ru*, 29.07.2016. Available at: <http://ugra-news.ru/article/29072016/34352> (accessed: 09.02.2017) (in Russian).
12. Amvros'eva T. V., Bogush Z. F. Water as an epidemic factor in the transmission of viral infections. *Nauka, obrazovanie i proizvodstvo v reshenii ekologicheskikh problem (Ekologiya-2011): sbornik nauchnykh statei 8-i Mezhdunarodnoi nauchno-tekhnicheskoi konferentsii* [Science, education and production in solving environmental problems (Ecology-2011): a collection of scientific articles of the 8th International scientific and technical conference], Ufa State Aviation Technical University, Ufa, 2011, vol. 2, pp. 231–236 (in Russian).
13. Poklonskaja N. V., Amvros'eva T. V., Bogush Z. F., Dedjulja K. L., Kazinec O. N., Glinskaja I. N., Dashkevich A. M., Kljuko N. L. Molecular epidemiological analysis of predominant non-polio enteroviruses in Belarus 2012–2013. *Vestsi Natsyianal'nai akademii navuk Belarusi. Seryia medytsynskikh navuk* = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series, 2014, no. 4, pp. 58–64. (in Russian).
14. Bogush Z. F., Amvros'eva T. V., Poklonskaia N. V., Loziuk S. K., Biskina N. M. Features of the circulation of pathogens of enterovirus infections in the Republic of Belarus in 2014–2015. *Meditinskie novosti* [Medical News], 2016, no. 12, pp. 59–63 (in Russian).

Информация об авторах

Амвросьева Тамара Васильевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: amvrosieva@gmail.com, labsanvir@gmail.com.

Богущ Зоя Федоровна – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com.

Бискина Нинель Михайловна – врач-эпидемиолог. Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (ул. К. Цеткин, 4, 220099, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: biskina@rcheph.by.

Поклонская Наталья Владимировна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com.

Лозюк Светлана Константиновна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com.

Казинец Ольга Николаевна – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com.

Information about the authors

Tamara V. Amvrosieva – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: amvrosieva@gmail.com.

Zoya F. Bohush – Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com.

Ninel M. Biskina – Epidemiologist. Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health (4, K. Tsetkin Str., 220099, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: biskina@rcheph.by.

Natalia V. Paklonskaya – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com.

Svetlana K. Lozyuk – Junior researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com.

Olga N. Kazinets – Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com.

**Н. А. Шуканова¹, М. А. Мартынова¹, И. М. Бушмакина¹, М. М. Молчан¹,
М. А. Брич², Н. А. Козловская³, Е. В. Шаповал³**

¹*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

²*Институт тепло- и массообмена НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

³*Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии
им. Н. Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь*

АХЭ ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ

Аннотация. Проведен сравнительный анализ влияния химиопрепаратов на ферментативную активность клеток в первичной культуре из злокачественной ткани молочной железы пациентки и клинического ответа раковой опухоли на неoadъювантную полихимиотерапию (НПХТ) теми же препаратами. В исследованиях использован тест по оценке чувствительности рака молочной железы (РМЖ) к химиопрепаратам на основе определения активности клеточной ацетилхолинэстеразы (АХЭ). Сопоставлены результаты влияния химиопрепаратов в культуре и клинического обследования пациенток с РМЖ различных молекулярно-генетических подтипов: люминального А, люминального В, Her2-позитивного и трижды негативного, или базальноподобного. Установлено, что совпадение результатов по ингибированию активности АХЭ раковых клеток препаратами в условиях *in vitro* и степени регрессии опухоли пациентки после НПХТ (*in vivo*) при маммографии составляет 69 %, при мануальном обследовании – 77, при ультразвуковом (УЗИ) – 62 %. Наибольшее совпадение исследуемых показателей получено для самых агрессивных молекулярно-генетических подтипов РМЖ.

Разработанные нами молекулярные критерии оценки влияния химиопрепаратов на клетки опухоли в условиях *in vitro* являются дополнительным прогностическим фактором и доступны к применению в клинических лабораториях при оптимизации тактики лечения пациенток.

Ключевые слова: рак молочной железы, первичная культура злокачественной ткани молочной железы, ацетилхолинэстераза опухолевых клеток, ответ опухоли на неoadъювантную полихимиотерапию

Для цитирования: АХЭ тест-система для индивидуализации неoadъювантной полихимиотерапии / Н. А. Шуканова [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2017. – № 3. – С. 100–106.

**N. A. Shukanova¹, M. A. Martynova¹, I. M. Bushmakina¹, M. M. Molchan¹, M. A. Britch²,
N. A. Kazlouskaya³, E. V. Shapova³**

¹*Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*Heat and Mass Transfer Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

³*N. N. Alexandrov National Cancer Center of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

ACHE TEST-SYSTEM FOR INDIVIDUALIZATION OF NEOADJUVANT POLYCHEMOTHERAPY

Abstract. A comparative analysis of the chemotherapy drug effects on the enzymatic activity of breast cancer (BC) cells in a tumor primary culture of BC patients and a clinical response of a cancer tumor to neoadjuvant polychemotherapy (NPHT) with the use of the same drugs were performed. We used our developed test to assess the sensitivity of BC cells to chemotherapy drugs by determining the cell activity of acetylcholinesterase (AChE). The effect of chemotherapeutic drugs in culture and the clinical examination of BC patients of various molecular-genetic subtypes (Luminal A, Luminal B, Her2-positive and Tripl-negative or Basal-like) were compared.

It is found that the coincidence of the results on the sensitivity of tumor cells *in vitro* and the degree of the patient's tumor regression after NPHT averaged for X-ray examination is 69 %, manual – 77 % and US – 62 %. The biggest coincidence of the studied parameters was obtained for the most aggressive molecular-genetic subtypes of BC.

Our developed test of assessment of the molecular chemotherapy effect on cells *in vitro* is the prognostic factor inexpensive and affordable for use in clinical laboratories when optimizing the patient treatment strategy.

Keywords: breast cancer, acetylcholinesterase activity, breast cancer primary culture, tumor response to neoadjuvant polychemotherapy

For citation: Shukanova N. A., Martynova M. A., Bushmakina I. M., Molchan M. M., Britch M. A., Kazlouskaya N. A., Shapova E. V. AChE test-system for individualization of neoadjuvant polychemotherapy. *Vestsi Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 100–106 (in Russian).

Введение. Среди онкологических заболеваний у женщин рак молочной железы (РМЖ) занимает лидирующее место (16 % от всех случаев рака) и является самой распространенной причиной смерти пациенток в возрасте от 45 до 55 лет. Мировая статистика свидетельствует о неизменном увеличении числа новых фиксируемых случаев РМЖ. Ежегодно только в Беларуси первично верифицированная злокачественная опухоль молочной железы определяется более чем у 3,5 тыс. женщин, при этом в 25 % случаев диагностируется последняя стадия. Клеточная гетерогенность РМЖ затрудняет выбор адекватной индивидуальной терапии заболевания.

В результате изучения молекулярно-биологических особенностей все опухоли РМЖ разделены на две большие группы – базальные и люминальные, происходящие соответственно из базального и люминального эпителия и отличающиеся друг от друга по экспрессии специфических кератинов. Более детальное исследование различных вариантов РМЖ позволило создать классификацию на основе наличия и/или отсутствия рецепторов эстрогенов (ER), прогестерона (PR) и рецептора человеческого эпидермального фактора роста второго типа (Her2/neu) в злокачественной ткани. При использовании методов генного анализа выделены следующие молекулярно-генетические подтипы РМЖ: люминальный А (ER+ и/или PR+/Her-2/neu–), люминальный Б (ER+ и/или PR+/Her-2/neu+), Her2-позитивный (ER–/PR–/Her-2/neu+), базальноподобный (тройной негативный) (ER–/PR–/Her-2/neu–) [1], различающиеся по прогнозу и чувствительности к противоопухолевым лекарственным средствам. Внутри подгруппы базальноподобного рака недавно выделен вариант claudin-low, отличающийся высокой экспрессией стволовых клеток с антигенами CD44⁺CD24[–] [2].

Наряду с молекулярно-генетическими известны биохимические маркеры степени злокачественности раковых клеток солидных опухолей, среди которых следует выделить активность холинэстераз, принадлежащих к классу гидролаз карбоновых кислот. Эти ферменты условно можно разделить на два типа: ацетилхолин-ацетилгидролазу (КФ 3.1.1.7), которая гидролизует преимущественно ацетилхолин и чаще всего называется ацетилхолинэстеразой (АХЭ), и ацилхолин-ацилгидролазу (КФ 3.1.1.8), гидролизующую такие сложные эфиры холина, как бутирилхолин и пропионилхолин [3]. Известно, что основной функцией АХЭ в возбудимых тканях является терминация синаптической трансдукции. Однако в последние годы накоплен большой экспериментальный материал, свидетельствующий о том, что этот фермент экспрессируется во многих типах невозбудимых тканей, является белком адгезии или ускоряет сборку бета-амилоидов в фибриллы [4], а также принимает участие в процессах пролиферации, дифференцировки и миграции клеток [5]. Активность АХЭ в раковых клетках солидных опухолей нередко коррелирует со степенью злокачественности новообразований. Показано, что ее активность в клетках менингиомы и глиомы в несколько раз выше, чем в клетках соседней здоровой ткани мозга [6]. Похожие аномальные свойства фермент проявляет в карциномах почки [7], легкого [8] и молочной железы [9]. Например, в клетках РМЖ активность АХЭ в 2 раза выше, чем в клетках соседней здоровой ткани, что позволяет положить в основу разработки одного из прогностических методов оценки эффективности лечения пациенток изменение активности АХЭ под действием химиотерапевтических препаратов в условиях *in vitro* [10].

Цель настоящей работы – сравнительный анализ влияния химиопрепаратов на активность ацетилхолинэстеразы в злокачественно трансформированных клетках первичной культуры из ткани молочной железы и персонализированного ответа раковой опухоли на неoadьювантную полихимиотерапию с использованием этих же лекарственных средств.

Материалы и методы исследования. Исследуемый материал получали из трепан-биоптатов опухоли пациенток с цитологически верифицированным диагнозом РМЖ. Во всех случаях выполнено стандартное гистологическое исследование и определен уровень экспрессии гормональных рецепторов ER, PR и показатель Her-2/neu. Рецепторный статус оценивали методом иммуногистохимии с применением антител к ER, PR и рецепторам Her-2/neu фирмы DAKO по стандартным инструкциям, рекомендованным фирмой-производителем. Первичную культуру из трепан-биоптатов опухолевой ткани получали, гомогенизируя ее в слабо притертом стеклянном гомогенизаторе в среде RPMI-1640, содержащей 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, 1 % L-глутамина и 40 мг/л гентамицина. Полученный гомогенат пропускали через капроновый фильтр и разлива-

ли в стерильные стеклянные флаконы объемом 10 мл. Образцы культивировали в суховоздушном CO_2 -инкубаторе HERAcCell 150 во влажной атмосфере при постоянном давлении 5 % CO_2 и 37 °C в течение 48 ч в отсутствие и в присутствии противоопухолевых лекарственных средств групп AC (доксорубин + циклофосфан) или AT (доксорубин + паклитаксел), в зависимости от того, какая группа лекарств была впоследствии назначена для неoadъювантной полихимиотерапии (НПХТ). Лекарственные средства вносили в первичную культуру в концентрациях, соответствующих клинически значимым дозам, применяемым в онкологической практике. В условиях *in vitro* для доксорубина концентрация составляла 20 мг/л, для циклофосфана – 240, для паклитаксела – 70 мг/л [11, 12].

После культивирования клетки трижды отмывали в забуференном фосфатами физиологическом растворе (ЗФР, pH 7,4). Активность АХЭ определяли стандартным методом с использованием реактива Элмана и выражали в относительных единицах увеличения оптической плотности раствора (ΔD) в минуту (t) в пересчете на 1 мг белка клеточной суспензии ($[c_6]$): $\Delta D/t \cdot [c_6]$ [13]. Концентрацию белка оценивали по стандартному методу Лоури [14]. Фотометрические измерения выполняли на спектрофотометре СРЕКОЛ 11. Статистическую обработку результатов осуществляли методами вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. АХЭ в первичной культуре злокачественно трансформированных клеток нелеченого РМЖ различных молекулярно-генетических подтипов была определена у 73 пациенток. Данные, представленные на рис. 1, свидетельствуют о том, что после культивирования без химиопрепаратов активность АХЭ в клетках люминального А подтипа составила $34,0 \pm 6,3$ ($n = 10$), в клетках люминального Б подтипа – $78,1 \pm 16,3$ ($n = 12$), Her2-позитивного подтипа – $95,68 \pm 19,04$ ($n = 18$), базальноподобного подтипа – $77,62 \pm 21,31$ ($n = 33$). Известно, что опухоли люминального А подтипа наименее агрессивны и характеризуются лучшим прогнозом по сравнению с рецептор-негативными злокачественными новообразованиями. Агрессивные опухоли люминального Б подтипа имеют значительно худший прогноз и большую вероятность рецидивов, чем люминального А подтипа. Базальноподобные опухоли отличаются высоким пролиферативным индексом, значительной агрессивностью и большой вероятностью развития метастатических форм. Выживаемость пациенток в этих группах ниже, чем в группах люминальных подтипов. Представленные на рис. 1 результаты свидетельствуют о том, что среднее значение

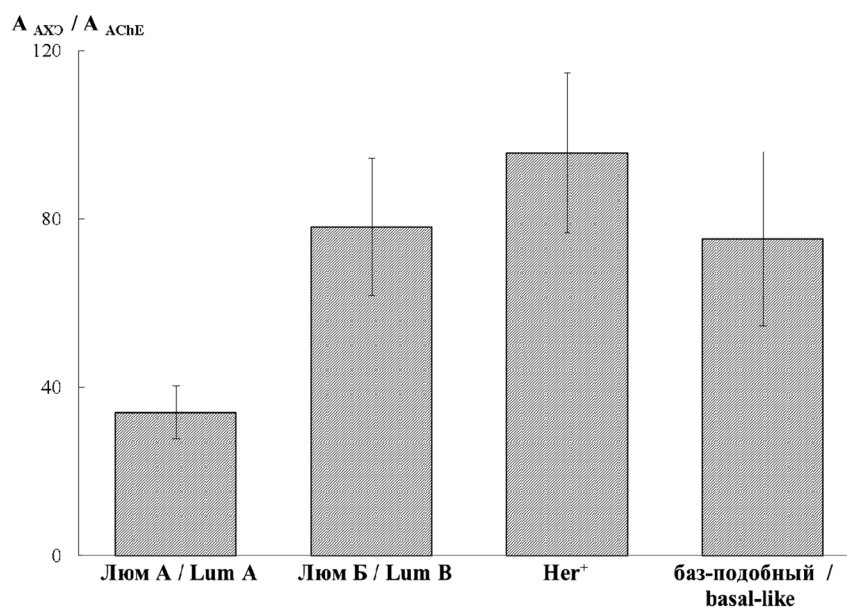


Рис. 1. Активность АХЭ (отн. ед.) в клетках РМЖ различных молекулярно-генетических подтипов. Уровень значимости различий активности АХЭ люминального А подтипа и более агрессивных подтипов люминального Б, трижды негативного и базальноподобного составляет $p \leq 0,05$

Fig. 1. AChE activity (relative units) in the cells of different molecular-genetic subtypes of BC. The level of difference significance of luminal A and more aggressive subtypes of luminal B, Her2-positiv, basal-like AChE activity is $p \leq 0.05$

активности АХЭ в клетках наименее агрессивного люминального А подтипа приблизительно в 2 раза меньше, чем в клетках остальных, более агрессивных подтипов рака ($p \leq 0,05$).

Большой разброс величин активности фермента в клетках базальноподобного рака можно объяснить гетерогенными молекулярными особенностями этих опухолей. Le Du с сопр. [15] проанализировали этот подтип с использованием геномных и транскриптомных технологий и выделили в нем еще 5 различных подгрупп:

- 1) базальноподобный с дефицитом репарации ДНК или сигнальных путей фактора роста;
- 2) мезенхимальноподобный с эпителиально-мезенхимальным переходом и свойствами раковых стволовых клеток;
- 3) иммунносвязанный трижды негативный подтип;
- 4) люминально-апокринный трижды негативный с гиперэкспрессией андрогенных рецепторов;
- 5) Her2-обогащенный трижды негативный подтип.

Опухоли этих подгрупп различаются по сигнатуре экспрессии генов, биологическим функциям клеток и клиническому исходу заболевания, при котором особое значение приобретает целевая терапия. Нами установлено, что именно в первичной культуре из биоптатов опухоли базальноподобного подтипа активность АХЭ имела наибольшие различия.

Таким образом, полученные нами экспериментальные данные свидетельствуют о корреляции между активностью АХЭ в клетках злокачественной опухоли молочной железы и степенью агрессивности, пролиферативной активностью и вероятностью метастазирования.

Основной задачей исследования являлось сопоставление чувствительности злокачественных клеток в первичной культуре из ткани нелеченого РМЖ к химиопрепаратам с данными клинического обследования пациентки после НПХТ с использованием тех же лекарств. В качестве критерия оценки чувствительности клеток РМЖ к противоопухолевым препаратам в условиях *in vitro* выбрана активность АХЭ. Степень регрессии опухоли после НПХТ оценивали методами мануального обследования, маммографии и ультразвукового исследования (УЗИ) и выражали в процентах.

Чувствительность или резистентность опухоли РМЖ *in vitro* к используемым химиопрепаратам оценивали путем сравнения активности АХЭ опухолевых клеток после культивирования в присутствии химиопрепаратов (A_x) с активностью АХЭ таких же клеток после культивирования без препаратов (A_k – контроль). Так как в области измерения активности АХЭ оптическая плотность суспензии клеток линейно зависела от количества гидролизованного субстрата, процедуру пересчета активности фермента в общепринятых единицах (нмоль/мг белка в минуту) упростили до оценки величин $N_k = \Delta D_k / t \cdot [c_0]$ и $N_x = \Delta D_x / t \cdot [c_0]$, т. е. определяли увеличение оптической плотности ΔD в минуту, пересчитанное на концентрацию белка в суспензии клеток, культивированных без (N_k) или в присутствии (N_x) химиопрепаратов. При $N_x / N_k < 1$ наблюдалось ингибирование активности АХЭ при действии химиопрепаратов на опухолевые клетки в культуре, и чем ближе была эта величина к нулю, тем более выраженными были положительные эффекты лечения [10]. При $N_x / N_k \geq 1$ химиопрепараты в первичной культуре или не влияли на опухолевые клетки, или усиливали их пролиферативную активность [10].

Определяемая различными клиническими методами степень регрессии опухоли после НПХТ не всегда однозначна. Например, у одной пациентки с люминальным А подтипом опухоли мануальное обследование после лечения показало, что размеры опухоли не изменились, при маммографии обнаружено ее увеличение на 11 %, а по данным УЗИ регрессия составила 63 %. У другой пациентки с Her2-позитивным подтипом при мануальном обследовании обнаружена регрессия 50 %, данные маммографии свидетельствовали о росте опухоли на 59 %, а по данным УЗИ регрессия составила 58 %. Следует отметить, что при ответе опухоли на НПХТ с использованием лучевых методов, охарактеризованном как полная регрессия, при гистологическом анализе в операционном материале часто выявляются элементы злокачественных образований [16, 17].

Нам удалось сопоставить влияние химиопрепаратов на опухолевые клетки в первичной культуре и результаты клинического обследования после НПХТ 42 пациенток, из них у 8 была обнаружена опухоль люминального А подтипа, у 6 – люминального Б подтипа, у 10 – Her2-позитивного подтипа и у 20 – трижды негативного подтипа. Совпадение ингибирования химиопрепаратами активности АХЭ клеток в условиях *in vitro* и степени регрессии опухоли пациентки после НПХТ

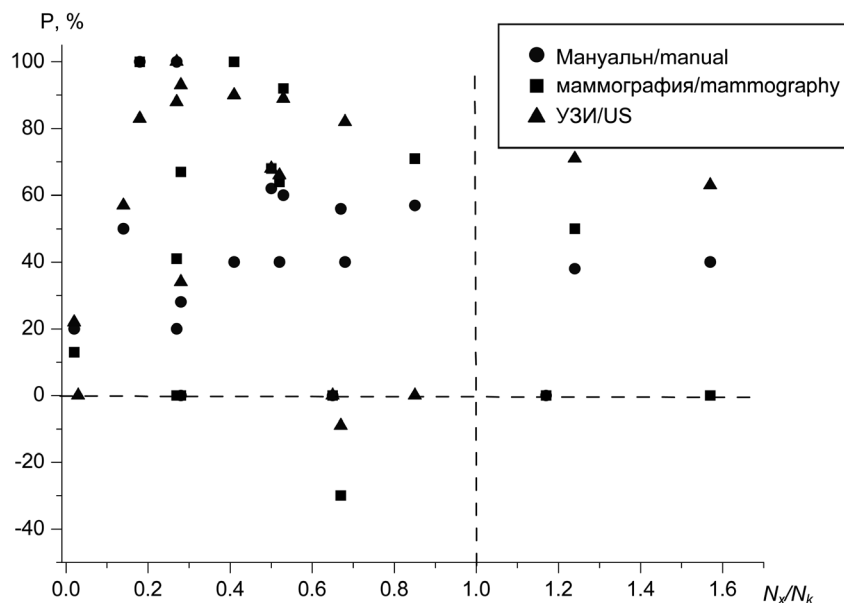


Рис. 2. Результаты сравнительного анализа действия химиопрепаратов на активность АХЭ в первичной культуре (N_x/N_k) и определяемая различными клиническими методами степень регрессии (P, %) опухоли трижды негативного подтипа после НПХТ

Fig. 2. Results of a comparative analysis of the chemotherapy action of the AChE activity in primary culture (N_x/N_k) and the regression degree (P, %) of the tumor of a triple negative subtype after NPHT defined by various clinical methods

при маммографии в среднем составило 69 %, при мануальном обследовании – 77, при УЗИ – 62 %. На рис. 2 представлены данные сравнительного анализа действия химиопрепаратов на активность АХЭ в первичной культуре и определяемые различными клиническими методами изменения после НПХТ размеров опухоли трижды негативного подтипа (20 пациенток). Видно, что основное количество точек находится в области $N_x/N_k < 1$ (ось абсцисс) и положительных величин регрессии (P, %, ось ординат), что подтверждает прогностическую значимость разработанной нами тест-системы.

Заключение. Полученные нами результаты влияния противоопухолевых средств на активность АХЭ в первичной культуре клеток РМЖ различных молекулярно-генетических подтипов и их сопоставление с клиническими показателями регрессии опухоли после НПХТ свидетельствуют о высокой степени корреляции. Поскольку разработанный нами тест по оценке чувствительности РМЖ к химиопрепаратам на основе определения активности клеточной АХЭ (патент G01N 33/48 «Способ определения у больного чувствительности клеток рака молочной железы к химиопрепарату или к группе химиопрепаратов») является недорогим и доступным к применению в клинических лабораториях, его можно использовать как дополнительный метод, позволяющий более четко определить прогноз заболевания и выработать оптимальную тактику лечения.

Список использованных источников

1. Стенина, М. Б. Рак молочной железы: наиболее важные научные события и выводы последних лет / М. Б. Стенина, М. А. Фролова // *Практ. онкология*. – 2011. – Т. 12, № 1. – С. 6–11.
2. Perou, C. M. Molecular stratification of triple-negative breast cancers / C. M. Perou // *Oncologist*. – 2010. – Vol. 15, suppl. 5. – P. 39–48.
3. Enzyme Nomenclature. Recommendations (1972) of the commission on biochemical nomenclature of the nomenclature and classification of enzymes. – Amsterdam: Elsevier Publishing Company, 1973.
4. Beta-amyloid aggregation induced by human acetylcholinesterase: inhibition studies / M. Bartolini [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 65, N 3. – P. 407–416.
5. Silman, I. Acetylcholinesterase: «classical» and «non-classical» functions and pharmacology / I. Silman, J. L. Sussman // *Curr. Opin. in Pharmacol.* – 2005. – Vol. 5. – P. 293–302.
6. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase histochemical activities and tumor cell growth in several brain tumors / M. Barbosa [et al.] // *Surg. Neurol.* – 2001. – Vol. 55, N 2. – P. 106–112.

7. Expression of cholinesterases in human kidney and its variation in renal cell carcinoma types / E. Munoz-Delgado [et al.] // *FEBS J.* 2010. – Vol. 277, N 21. – P. 4519–4529.
8. Cholinesterase activity of human lung tumours varies according to their histological classification / P. Martinez-Moreno [et al.] // *Carcinogenesis.* – 2006. – Vol. 27, N 3. – P. 429–436.
9. Cholinesterase activity and acetylcholinesterase glycosylation are altered in human breast cancer / F. Ruiz-Espejo [et al.] // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2002. – Vol. 72, N 1. – P. 11–22.
10. Сравнительный анализ реакции злокачественно трансформированных клеток на химиопрепараты в первичной культуре и посттерапевтических изменений опухоли пациенток с диагнозом рак молочной железы / Н. А. Шуканова [и др.] // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: Междунар. науч. конф.; Десятый съезд Белорус. обществ. об-ния фотобиологов и биофизиков, 9–21 июня 2012 г., Минск, Беларусь: сб. ст.: в 2 ч. / М-во образования Респ. Беларусь, Белорус. гос. ун-т, Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т биофизики и клеточ. инженерии; [редкол.: И. Д. Вологовский и др.]. – Минск, 2012. – Ч. I. – С. 405–408.
11. Furukawa, N. Clinical application of the histoculture drug response assay / N. Furukawa, T. Kubota, R. M. Hoffman // *Clin. Cancer Res.* – 1995. – Vol. 1. – P. 305–311.
12. Ищенко, Р. В. Методика капельно-плазменного культивирования опухолевой ткани для экспресс-определения индивидуальной чувствительности к химиопрепаратам / Р. В. Ищенко // *Онкология.* – 2002. – Т. 4, № 1. – С. 15–17.
13. Ellman, G. L. A new and rapid calorimetric determination of acetylcholinesterase activity / G. L. Ellman, K. Courtneuy, V. Andres // *Biochem. Pharmacol.* – 1961. – Vol. 7, N 2. – P. 88–93.
14. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1951. – Vol. 193, N 1. – P. 265–275.
15. Is the future of personalized therapy in triple-negative breast cancer based on molecular subtype? / F. Le Du [et al.] // *Oncotarget.* – 2015. – Vol. 6, N 15. – P. 12890–12908.
16. Prognostic significance of a combined clinicopathologic score for response to primary systemic therapy in locally advanced breast cancer / P. Bertheau [et al.] // *Oncol. Rep.* – 2005. – Vol. 14, N 2. – P. 513–520.
17. Clinical and radiologic assessments to predict breast cancer pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy / A. F. Schott [et al.] // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2005. – Vol. 92, N 3. – P. 231–238.

References

1. Stenina M. B., Frolova M. A. Breast cancer: the most important scientific events and conclusion of recent years. *Prakticheskaja onkologija* [Practical Oncology], 2011, vol. 12, no. 1, pp. 6–11. (in Russian).
2. Perou C. M. Molecular stratification of triple-negative breast cancers. *Oncologist*, 2010, vol. 15, suppl. 5, pp. 39–48.
3. Enzyme Nomenclature. Recommendations (1972) of the commission on biochemical nomenclature of the nomenclature and classification of enzymes, Amsterdam, Elsevier Publishing Company, 1973.
4. Bartolini M., Bertucci C., Cavrini V., Andrisano V. Beta-amyloid aggregation induced by human acetylcholinesterase: inhibition studies. *Biochemical Pharmacology*, 2003, vol. 65, no. 3, pp. 407–416.
5. Silman I., Sussman J. L. Acetylcholinesterase: «classical» and «non-classical» functions and pharmacology. *Current Opinion in Pharmacology*, 2005, vol. 5, pp. 293–302.
6. Barbosa M., Rios O., Velasques M., Villalobos J., Ehrmanns J. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase histochemical activities and tumor cell growth in several brain tumors. *Surgical Neurology*, 2001, vol. 55, no. 2, pp. 106–112.
7. Mucoz-Delgado E., Montenegro M. F., Campoy F. J., Moral-Naranjo M. T., Cabezas-Herrera J., Kovacs G., Vidal C. J. Expression of cholinesterases in human kidney and its variation in renal cell carcinoma types. *FEBS Journal*, 2010, vol. 277, no. 21, pp. 4519–4529.
8. Martinez-Moreno P., Nieto-Ceron S., Torres-Lanzas J., Ruiz-Espejo F., Tovar-Zapato I., Martinez-Hernandez P., Rodriguez-Lopez J. N., Vidal C. J., Cabezas-Herrera J. Cholinesterase activity of human lung tumours varies according to their histological classification. *Carcinogenesis*, 2006, vol. 27, no. 3, pp. 429–436.
9. Ruiz-Espejo F., Cabezas-Herrera J., Illana J., Campoy F. J., Vidal C. J. Cholinesterase activity and acetylcholinesterase glycosylation are altered in human breast cancer. *Breast Cancer Research Treatment*, 2002, vol. 72, no. 1, pp. 11–22.
10. Shukanova N. A., Martynova M. A., Putyrsky L. A., Putyrsky Iu. L., Kazlouskaia N. A., Bushmakina I. M., Molchan M. M. Comparative analysis of the reaction of malignantly transformed cells to chemotherapy in primary culture and post-therapeutic changes in the tumor of patients diagnosed with breast cancer. *Molekuliarnye, membrannye i kletochnye osnovy funkcionirovaniia biosistem: Mezhdunarodnaia nauchnaia konferentsiia; Desiatyi s'ezd Belorusskogo obshchestvennogo ob'edineniia fotobiologov* [Molecular, membrane and cellular bases of biosystem functioning: International scientific conference; The Tenth congress of the Belarusian public association of photobiologists and biophysicists]. Minsk, 2012, part 1, pp. 405–408. (in Russian).
11. Furukawa N., Kubota T., Hoffman R. M. Clinical application of the histoculture drug response assay. *Clinical Cancer Research*, 1995, vol. 1, pp. 305–311.
12. Ischenko R. V. Technique of drop/plasma culturation of tumor tissues for snap analysis of individual susceptibility to chemodrugs. *Onkologija* [Oncology], 2002, vol. 4, no. 1, pp. 15–17. (in Russian).
13. Ellman G. L., Courtneuy K., Andres V. A new and rapid calorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 1961, vol. 7, no. 2, pp. 88–93.
14. Lowry O. H., Rosebrough H. L., Farr A. L., Randall P. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal Biological Chemistry*, 1951, vol. 193, no. 1, pp. 265–275.

15. Le Du F., Eckhardt B. L., Lim B., Litton J. K., Moulder S., Meric-Bernstam F., Gonzalez-Angulo A. M., Ueno N. T. Is the future of personalized therapy in triple-negative breast cancer based on molecular subtype? *Oncotarget*, 2015, vol. 6, no. 15, pp. 12890–12908.

16. Bertheau P., Lerebours F., Nicolas Mounier N., de Roquancourt A., Espiř M., Clot P., Servant J.-M., Misset J.-L., Marty M., Janin F. Prognostic significance of a combined clinicopathologic score for response to primary systemic therapy in locally advanced breast cancer. *Oncology Report*, 2005, vol. 14, no. 2, pp. 513–520.

17. Schott A. F., Roubidoux M. A., Helvie M. A., Hayes D. F., Kleer C. G., Newman L. A., Pierce L. J., Griffith K. A., Murray S., Hunt K., Paramagul C., Baker L. H. Clinical and radiologic assessments to predict breast cancer pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Research Treatment*, 2005, vol. 92, no. 3, pp. 231–231. doi: 10.1007/s10549-005-2510-1.

Информация об авторах

Шуканова Наталья Андреевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: natashu2006@yandex.ru.

Мартынова Мария Алексеевна – канд. хим. наук, заведующий лабораторией. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: martynova@ibp.org.by.

Бушмакина Ирина Михайловна – канд. биол. наук, науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: bushm-im@yandex.by.

Молчан Михаил Михайлович – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: molchanmisha@mail.ru.

Брич Михаил Арсеньевич – канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник. Институт тепло- и массообмена НАН Беларуси (ул. П. Бровки, 15, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mabritch@hmit.ac.by.

Козловская Наталья Александровна – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (агр. Лесной, 223040, Минский район, Республика Беларусь). E-mail: oncomammolog@tut.by.

Шаповал Евгения Викторовна – д-р мед. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (агр. Лесной, 223040, Минский район, Республика Беларусь). E-mail: jaklin60@rambler.ru.

Information about authors

Natalia A. Shukanova – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: natashu2006@yandex.ru.

Maria A. Martynova – Ph. D. (Chem.), Head of the Laboratory. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: martynova@ibp.org.by.

Irina M. Bushmakina – Ph. D. (Biol.), Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: bushm-im@yandex.by.

Mikhail M. Molchan – Junior researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: molchanmisha@mail.ru.

Mikhail A. Britch – Ph. D. (Phys.-math.), Senior researcher. Heat and Mass Transfer Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (15, Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mabritch@hmit.ac.by.

Natalya A. Kazlouskaya – Researcher. N. N. Alexandrov National Cancer Center of Belarus (Forestry Agrotown, 223040, Region of Minsk, Republic of Belarus). E-mail: oncomammolog@tut.by.

Eugeniya V. Shapoval – D. Sc. (Med.), Head of the Laboratory. N. N. Alexandrov National Cancer Center of Belarus (Forestry Agrotown, 223040, Region of Minsk, Republic of Belarus). E-mail: jaklin60@rambler.ru.

И. В. Дударева

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

**ДИАГНОСТИКА АДЕНОЛИМФОМЫ ОКОЛОУШНОЙ ЖЕЛЕЗЫ:
КОРРЕЛЯЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ
УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ДИАГНОСТИКИ И ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ
УДАЛЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ**

Аннотация. В клинической практике встречаются многообразные формы аденолимфом (АЛ) околоушной железы (ОЖ). Челюстно-лицевые хирурги придерживаются двух основных тактик их хирургического лечения: удаление и удаление методом резекции вместе с прилежащими дольками слюнной железы.

Цель исследования – установить корреляционные связи результатов предоперационного ультразвукового исследования АЛ и гистархитектоники удаленных опухолей и внутриорганных лимфатических узлов ОЖ.

Проведено до- и послеоперационное обследование пациентов с АЛ слюнной железы ($n = 45$).

Общими, статистически достоверными сонографическими признаками для всех вариантов АЛ являлись ровные контуры образования (73,9 %, $n = 33$), гетерогенность его структуры за счет наличия кистозных включений.

По данным гистологического исследования, при микро- и мультикистозном варианте АЛ опухоль отграничена от здоровых тканей четко выраженной оболочкой. Во внутриорганных лимфатических узлах ОЖ ($n = 10$), удаленных одновременно с опухолью, при морфологическом анализе обнаружены островки эктопированной ткани слюнной железы ($n = 2$).

Ключевые слова: слюнные железы, аденолимфома, гистологическое строение, ультразвуковая диагностика, хирургическое лечение, рецидив

Для цитирования: Дударева, И. В. Диагностика аденолимфомы околоушной железы: корреляция результатов предоперационной ультразвуковой диагностики и гистологического исследования удаленных опухолей / И. В. Дударева // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 3. – С. 107–110.

I. V. Dudareva

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

**ADENOLYMPHOMA OF THE PAROTID GLAND: CORRELATION OF THE RESULTS
OF PRE-OPERATIVE ULTRASOUND DIAGNOSTICS AND HISTOLOGICAL RESEARCH
OF REMOVED TUMORS**

Abstract. Superficial parotidectomy and surgical removal are the most common methods of treatment of adenolymphoma (Warthin's tumor). The best surgical technique and the extent of surgery remain controversial.

This study attempts to establish a correlation of the ultrasound and histopathology data of the removed adenolymphoma of the parotid gland and intraparotid lymph nodes.

The study used the data of pre- and postoperative assessment of patients with adenolymphoma of the salivary gland ($n = 45$) with the implication of radiological and morphological methods of diagnosis.

Surgical removal of morphologically verified adenolymphoma is considered to be optimal due to the fact that the tumor is removed from a healthy tissue by a distinct sheath.

Lymph nodes located in the operation field should be removed simultaneously. Dynamic control over the intraorganic lymph nodes located far from the operation field should be done in the long-term postoperative period.

Keywords: salivary glands, adenolymphoma, Warthin's tumor, morphological presentation and radiographic imaging, surgical recurrence

For citation: Dudareva I. V. Adenolymphoma of the parotid gland: correlation of the results of pre-operative ultrasound diagnostics and histological research of removed tumors. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 107–110 (in Russian).

Введение. Аденолимфома (АЛ, Warthin's tumor) – доброкачественная опухоль эпителиального происхождения, локализуемая преимущественно в околоушной железе (ОЖ). Опухоль состоит из двух компонентов: паренхимы, представленной кистоподобными эпителиальными структурами, выстланными двухрядным эпителием, и стромы, состоящей из типичной лимфоидной ткани [1].

При удалении АЛ челюстно-лицевые хирурги, как правило, придерживаются тактики энуклеации опухоли (перикапсулярное удаление) [2]. Предпочтение этому методу отдается, во-первых, в связи с гистологическими особенностями АЛ (наличие полноценной оболочки), а во-вторых, с тем, что при применении этого метода тканям ОЖ наносится минимальная операционная травма, что снижает риск послеоперационных осложнений [1–3]. Вместе с тем сторонники тактики удаления АЛ методом частичной паротидэктомии (вместе с прилежащей к образованию тканью слюнной железы) указывают, что при энуклеации в отдаленном послеоперационном периоде в 1,2–2 % случаев возможно повторное возникновение опухоли, что дает основание расширить объем оперативного вмешательства [4].

Ультразвуковыми характеристиками АЛ являются гетерогенная эхоструктура, ровные контуры и наличие кистозных включений [5].

Цель исследования – установить корреляционные связи результатов предоперационной ультразвуковой диагностики и гистологического исследования удаленных аденолимфом и внутриорганных лимфатических узлов околоушной железы.

Материалы и методы исследования. Проведен анализ результатов гистологического исследования удаленных АЛ ($n = 45$), а также внутриорганных лимфатических узлов ОЖ ($n = 10$), которые располагались рядом с опухолью и удалялись одновременно с ней. Проведено их сопоставление с данными лучевых методов диагностики АЛ в предоперационном периоде.

Хирургическое лечение пациентов проводилось в 1-м отделении челюстно-лицевой хирургии УЗ «11-я городская клиническая больница» за период с 2011 по 2015 г. За это время имели место 2 случая повторного возникновения АЛ в отдаленном послеоперационном периоде. Были проанализированы гистологические препараты удаленных опухолей и проведено сопоставление результатов лучевых методов исследования первичной и повторно возникшей АЛ.

Гистологическое исследование удаленных опухолей проводилось на кафедре патологической анатомии УО «Белорусский государственный медицинский университет». Изучение микропрепаратов (окраска гематоксилином и эозином) осуществляли на микроскопе LeicaDMLB (Leica, Германия).

На основании данных гистологического исследования все опухоли ($n = 45$) были разделены на микрокистозные ($n = 10$), мультикистозные ($n = 29$) и макрокистозные ($n = 6$). В зависимости от гистоархитектоники два первых варианта были подразделены на подварианты: микрокистозный вариант включал папиллярный ($n = 4$) и фолликулярный подварианты ($n = 6$), а мультикистозный – цистпапиллярный ($n = 6$), цистфолликулярный ($n = 18$) и смешанный ($n = 5$).

Результаты и их обсуждение. *Микрокистозный вариант АЛ* (21,7 %, $n = 10$) макроскопически был представлен относительно неоднородным опухолевым узлом, ткань которого напоминала лимфоидную. Гистологически вариант представлен подвариантами: а) папиллярным (8,9 %, $n = 4$; представлен ветвящимися стромальными стволиками с выраженной лимфоидной инфильтрацией, выстланными типичным двухрядным эпителием); б) фолликулярным (13,3 %, $n = 6$; характеризовался формированием железистых и тубулярных структур, папиллярные структуры отсутствовали или встречались в виде единичных образований). Применение лучевых методов диагностики показало, что в 9 (90,0 %) случаях образования имели кистозно-солидную структуру с преимуществом тканевого компонента, в 1 (10,0 %) случае – гетерогенную тканевую, контуры опухоли во всех случаях были ровными.

Мультикистозный вариант АЛ (65,2 %, $n = 29$) макроскопически был представлен узлом с множеством различных по размеру кистозных полостей, заполненных мутно-бурым вязким содержимым, гистологически – цистпапиллярным, цистфолликулярным и смешанным подвариантами.

Цистпапиллярный подвариант АЛ (20 %, $n = 6$) характеризовался наличием папиллярных структур во внутренней выстилке опухоли и формированием кистозного компонента.

Цистфолликулярный подвариант АЛ (63,31 %, $n = 18$) характеризовался гладкой внутренней выстилкой эпителиального компонента, отсутствием папиллярных структур и формированием кистозных полостей.

Смешанный подвариант АЛ (16,7 %, $n = 5$) характеризовался наличием кистозных структур, на стенках которых формировались папиллярные и фолликулярные образования.

Ультразвуковыми характеристиками мультикистозного варианта являлось наличие ровных контуров (62 %, $n = 18$); образования имели вид кистозно-солидной структуры с преобладанием тканевого компонента (13,8 %, $n = 4$) и преимуществом кистозного компонента (86,2 %, $n = 25$).

По данным гистологического исследования выявлено, что при микрокистозном и мультикистозном вариантах АЛ опухоль отграничена от здоровых тканей четко выраженной оболочкой. Удаление морфологически верифицированной АЛ методом энуклиации является оптимальным, так как он наименее травматичный для ОЖ и вместе с тем достаточный по объему оперативного вмешательства.

Макрокистозный вариант АЛ (13,1 %, $n = 6$) характеризовался формированием компонента с гладкой внутренней эпителиальной выстилкой. На разрезе удаленная опухоль имела вид кистозного образования с тонкой капсулой, содержащей мутно-бурую жидкость; внутренняя выстилка кисты была блестящей, мелкобугристой, бородавчатой.

При УЗИ выявлялось кистозное образование с ровным контуром (83,3 %, $n = 5$), внутренними структурными разрастаниями и/или наличием перегородок.

Кроме того, в 4 (66,7 %) случаях отмечалось истончение оболочки опухоли, а в отдельных участках – ее дефект.

При гистологическом исследовании внутриорганных лимфатических узлов ОЖ ($n = 10$), находившихся в операционном поле и удаленных одновременно с опухолью, в 20 % наблюдений ($n = 2$) обнаружены островки эктопированной ткани слюнной железы, что является косвенным клиническим подтверждением дизонтогенетической теории возникновения АЛ [6]. Следует отметить, что при ультразвуковом исследовании в предоперационном периоде данные лимфатические узлы имели неизмененную эхоструктуру.

За период исследования имело место 2 (4,2 %) случая рецидива АЛ. При детальном ретроспективном анализе выявлено, что в обоих случаях для удаления первичной опухоли проведена частичная паротидэктомия с помощью операционного микроскопа, так как по данным цитологического исследования не было четкой верификации диагноза. Ранний послеоперационный период проходил без осложнений. У пациентов повторные жалобы на наличие образования в ОЖ появились в первом случае спустя 15 лет, во втором – через 8 лет после проведенного хирургического лечения. Кроме того, у обоих пациентов возникли новые, схожие по строению образования в противоположной околоушной железе.

При повторном обращении пациентов патологические образования в области первичной локализации опухоли, по данным лучевых методов диагностики, в обоих случаях отсутствовали. Однако установлено, что анатомо-топографическое расположение появившихся образований (в прооперированной железе и ранее интактной), по данным МРТ, соответствовало локализации внутриорганных лимфатических узлов, определявшихся на момент первичной операции и имевших неизмененную эхоструктуру.

Обоим пациентам проведена операция – субтотальная резекция ОЖ с помощью операционного микроскопа. По результатам гистологического исследования послеоперационного материала диагностирована АЛ ОЖ.

Заключение. При микрокистозном варианте ультразвуковыми характеристиками опухоли были: ровные контуры (100 %, $n = 10$) и кистозно-солидная структура образования с преимуществом тканевого компонента (90,0 % случаев, $n = 9$).

При ультразвуковом исследовании мультикистозного варианта выявлено наличие ровных контуров у образований (62 %, $n = 18$), их кистозно-солидная структура с преобладанием кистозного (86,2 %, $n = 25$) и тканевого (13,8 %, $n = 4$) компонентов.

Макрокистозный вариант АЛ при ультразвуковом исследовании представлял собой кистозное образование с тканевыми включениями, контуры которого были ровными в 83,3 % случаев ($n = 5$).

Особенностью гистологического строения этого варианта АЛ является истончение ее оболочки и наличие дефектов на отдельных участках.

При гистологическом исследовании внутриорганных лимфатических узлов ОЖ ($n = 10$), удаленных одновременно с опухолью, обнаружены островки эктопированной ткани слюнной железы ($n = 2$).

Анатомо-топографическое расположение рецидивов АЛ, по данным МРТ, соответствовало локализации внутриорганных лимфатических узлов (в прооперированной железе и ранее интактной), определявшихся на момент первичной операции и имевших неизмененную экоструктуру, в связи с чем необходимым является динамическое наблюдение (УЗИ, МРТ) за внутриорганными лимфатическими узлами ОЖ с обеих сторон в отдаленном послеоперационном периоде.

Список использованных источников

1. Goel, S. Warthin's tumor of the Parotid gland: a case report / S. Goel, S. Gupta, R. Prackash // *ARC J. of Clin. Case Report.* – 2016. – Vol. 2, N 1. – P. 14–18.
2. Extracapsular dissection for Warthin tumor in the tail of parotid gland / D. H. Lee [et al.] // *Acta Otolaryngol.* – 2017. – Vol. 137, N 9. – P. 1007–1009.
3. Carlson, E. R. Margins for benign salivary gland neoplasms of the head and neck / E. R. Carlson, J. M. McCoy // *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.* – 2017. – Vol. 29, N 3. – P. 325–340.
4. Witt, R. L. Recurrent benign salivary gland neoplasms / R. L. Witt, P. Nicolai // *Adv. Otorhinolaryngol.* – 2016. – Vol. 78. – P. 63–70.
5. Zajkowski, P. Standards for the assessment of salivary glands – an update / P. Zajkowski, A. Ochal-Choicka // *J. Ultrason.* – 2016. – Vol. 16, N 65. – P. 175–190.
6. Robert, L. The role of extracapsular dissection for benign parotid tumors / L. Robert, I. Heinric, M. Mc. Mark // *Curr. Otorhinolaryngol. Rep.* – 2014. – N 2. – P. 55–63.

References

1. Goel S., Gupta S., Prackash R. Warthin's tumor of the Parotid gland: a case report. *Academicians' Research Center Journal of Clinical Case Report*, 2016, vol. 2, no. 1, pp. 14–18.
2. Lee D. H., Yoon T. M., Lee J. K., Lim S. C. Extracapsular dissection for Warthin tumor in the tail of parotid gland. *Acta Oto-Laryngologica*, 2017, vol. 137, no. 9, pp. 1007–1009. doi: 10.1080/00016489.2017.1318221.
3. Carlson E. R., McCoy J. M. Margins for benign salivary gland neoplasms of the head and neck. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 2017, vol. 29, no. 3, pp. 325–340. doi: 10.1016/j.coms.2017.03.009.
4. Witt R. L., Nicolai P. Recurrent benign salivary gland neoplasms. *Adv. Otorhinolaryngology*, 2016, vol. 78, pp. 63–70. doi: 10.1159/000442126.
5. Zajkowski P., Ochal-Choicka A. Standards for the assessment of salivary glands – an update. *Journal of Ultrasonography*, 2016, vol. 16, no. 65, pp. 175–190. doi: 10.15557/JoU.2016.0019.
6. Robert L., Heinric I., Mark M. Mc. The role of extracapsular dissection for benign parotid tumors. *Current Otorhinolaryngology Reports*, 2014, no. 2, pp. 55–63.

Информация об авторе

Дударева Инна Вячеславовна – ассистент. Белорусский государственный медицинский университет (ул. Корженевского, 4, 220108, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: I. Dudareva@tut.by.

Information about the author

Inna V. Dudareva – Assistant. Belarusian State Medical University (4, Korzhenevskogo Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: I. Dudareva@tut.by.

**Л. П. ПАРХАЧ, Р. Г. АШУРОВ, А. Ф. СМЕЯНОВИЧ,
Э. П. ТИТОВЕЦ, Е. В. БОСЯКОВА**

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

НАРУШЕНИЯ ВОДНОГО ОБМЕНА ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ОПУХОЛЯХ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ

Аннотация. Методами функциональной магнитно-резонансной нейровизуализации исследован водный обмен головного мозга при опухолях разной степени злокачественности. Исследования выполнены в режиме фазоконтрастной T_2 -взвешенной и диффузионно-взвешенной МРТ-визуализации. Получены данные о распространении перитуморального отека, подвижности воды в области отека и в паренхиме головного мозга, движении цереброспинальной жидкости в Сильвиевом водопроводе. Обнаружена положительная корреляция ($R = 96\%$) между величиной перитуморального отека и значением коэффициента асимметрии.

Полученные данные о водном обмене головного мозга затруднительно объяснить с классических позиций. Согласно новым представлениям, предполагаемое участие в этом обмене капилляров паренхимы головного мозга дает возможность более широко интерпретировать полученные результаты.

Ключевые слова: опухоли головного мозга, водный обмен головного мозга, магнитно-резонансная нейровизуализация

Для цитирования: Нарушения водного обмена головного мозга при опухолях различной степени злокачественности / Л. П. Пархач [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 3. – С. 111–120.

L. P. Parkhach, R. G. Ashurov, A. F. Smeyanovich, E. P. Titovets, K. V. Bosyakova

Republican Scientific and Practical Center for Neurology and Neurosurgery, Minsk, Republic of Belarus

DISTURBANCE OF BRAIN WATER METABOLISM IN TUMORS OF DIFFERENT-DEGREE MALIGNANCY

Abstract. The methods of functional magnetic resonance imaging have been used to study the brain water exchange in tumors of different-degree malignancy. The studies were performed in the phase-contrast T_2 -weighted mode and the diffusion-weighted mode. Data were obtained on the distribution of peritumoral edema, water mobility in the edema and parenchyma of the brain, the movement of cerebrospinal fluid in the Sylvian aqueduct. A positive correlation ($R = 96\%$) was found between the amount of peritumoral edema and the asymmetry coefficient value.

The obtained data of water metabolism of the brain are difficult to explain from the classical point of view. A new approach based on the participation of the brain parenchyma capillaries provides better opportunities for interpreting the obtained results.

Keywords: brain tumors, brain water exchange, magnetic resonance neuroimaging

For citation: Parkhach L. P., Ashurov R. G., Smeyanovich A. F., Titovets E. P., Basiakova K. V. Disturbance of brain water metabolism in tumors of different-degree malignancy. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 111–120 (in Russian).

Введение. Нарушения водного обмена головного мозга и механизм этих нарушений является одной из важнейших проблем в неврологии и нейрохирургии [1]. Наблюдающаяся в последнее время активность исследований в этой области, с охватом молекулярных, клеточных, тканевых и органных уровней, применение новых неинвазивных технологий исследования поставила под сомнение классические представления о водном обмене головного мозга.

В основе классического представления об обмене цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) лежат исследования Кушинга 1929 г. Его концепция «третьей циркуляции», описывающая объемный ток ЦСЖ, представлялась неоспоримой. Так, считалось, что подавляющее количество ЦСЖ продуцируется в хориоидальном сплетении, проходит через желудочки, цистерны, субарахноидальное пространство, где в основном адсорбируется в венозные синусы в кровь через арахноидальные ворсинки. ЦСЖ вытекает из желудочков однонаправленным потоком. Предполагалось,

что до 80 % ЦСЖ секретируется хориоидальным сплетением в полости желудочков, а паренхима головного мозга приносит оставшиеся 20 %. Обструкция или выраженный стеноз Сильвиего водопровода различной этиологии могут приводить к развитию тривентрикулярной гидроцефалии головного мозга [2, 3].

Пересмотр на современном этапе общепринятых положений о водном обмене и отеке головного мозга и связанных с этим нарушений осложняется отсутствием единого общепринятого механизма, учитывающего совокупность новых экспериментальных и клинических наблюдений.

В свете новых данных подвергается сомнению классическое представление об однонаправленном движении ЦСЖ [4]. В качестве альтернативной выдвигается капиллярная теория, согласно которой ЦСЖ продуцируется и сорбируется главным образом капиллярами головного мозга.

Нарушения конвекции интерстициальной жидкости (ИЖ) неизбежно имеют место при различных патологиях головного мозга: травмах, опухолях, нейродегенеративных заболеваниях и др. При этом универсальной патофизиологической реакцией головного мозга является развитие его отека (одна из основных причин летального исхода) [1].

Цель данной работы – с использованием неинвазивных методов магнитно-резонансной нейровизуализации изучить состояние водного обмена головного мозга при его опухолях различной степени злокачественности.

Материалы и методы исследования. Исследования водного обмена выполнены как собственно в паренхиме головного мозга, так и в Сильвиевом водопроводе, где осуществляется, согласно классическим представлениям, глобальный ток ЦСЖ и ее выход из желудочков головного мозга. Такой подход позволяет проанализировать полученные результаты с позиции не только с классических, но и новых представлений о водном обмене головного мозга и его нарушениях.

Наиболее адекватным неинвазивным подходом к изучению водного обмена головного мозга является применение методов функциональной магнитно-резонансной визуализации. Исследования выполнены с использованием магнитно-резонансного томографа (МРТ) MRI 3T General Electric, Discovery 750.

Магнитно-резонансная нейровизуализация осуществлена у 31 пациента с опухолями головного мозга разной степени злокачественности. Исследования проведены в режиме фазоконтрастной T_2 -взвешенной магнитно-резонансной нейровизуализации на магнитных срезах головного мозга в сагиттальной, аксиальной и коронарной плоскостях.

Диффузионно-взвешенная МРТ-визуализация позволяет получить данные о топографии распределения эффективных коэффициентов диффузии воды (ЭКД, или ADC) в тканях головного мозга.

Аксиальный ток ЦСЖ в Сильвиевом водопроводе исследовали в режиме AXCSF-Flow пакета программ General Electric в комплекте томографа Discovery 750.

Направление течения ЦСЖ определяли с помощью показателя асимметрии потока – параметра K_a [5]. Этот показатель представляет собой отношение по модулю краниокаудальной объемной скорости ЦСЖ (V_s) к каудокраниальному объемному потоку (V_d): $K_a = V_s/V_d$. При $K_a > 1$ поток ЦСЖ в Сильвиевом водопроводе имеет краниокаудальное направление, при $K_a < 1$ – обратное.

Для получения развернутой информации о состоянии водного обмена головного мозга проводили дальнейшую обработку данных нейровизуализации с помощью ряда компьютерных программ. Для обработки графических результатов использовали компьютерные программы Vidar Dicom Viewer, MIMICS.

В программе Vidar Dicom Viewer проводили измерения площади опухоли и перитуморального отека на снимках аксиальной проекции головного мозга. Относительную величину отека определяли по отношению площади перитуморального отека (S_o) к площади опухоли (S_t).

С помощью программы MIMICS (Materialises Interactive Medical Image Control System) осуществляли 3D-представление данных.

Статистическую обработку выполняли с использованием программы MS Excel.

Результаты и их обсуждение. Большая диагностическая ценность диффузионно-взвешенной МРТ-визуализации заключается в том, что она позволяет выявить области головного мозга с разной скоростью движения воды. При этом увеличение ADC считается маркером вазогенного интерстициального отека [6]. Следует отметить, что пульсирующий возвратно-поступательный

характер движения цереброспинальной и интерстициальной жидкостей приводит к тому, что эффективные коэффициенты диффузии воды отражают величины, близкие к суммарному потоку жидкости. Значения составляющих потоков могут значительно отличаться от их векторной суммы.

Для оценки интенсивности движения жидкостей головного мозга по топографии ADC использовали программу Mimics Medical. Эта программа включает полный набор инструментов, специально разработанных для биомедицинской отрасли, что позволяет выполнять множество технических операций, начиная с плоскостного отображения данных и заканчивая созданием трехмерных моделей. Технология исследования водного обмена головного мозга с использованием программы Mimics Medical дает возможность получить 3D-модели, выраженные с помощью эффективных коэффициентов диффузии воды.

В гистоструктурах головного мозга свободное движение диполей воды тормозится в силу наличия стерических препятствий, пристеночных взаимодействий и др. [7]. Это приводит к затуханию МР-сигнала, и измеряемый эффективный коэффициент диффузии будет меньше такового для объемной воды при нормальной температуре тела. При использовании пары диффузионных градиентных импульсов одинаковой амплитуды G и длительности d получаемые изображения зависят не от плотности спинов и времени релаксации T_1 или T_2 , а от диффузии молекул воды в тканях изучаемого среза.

3D-модели водного обмена головного мозга могут быть количественно представлены в узком диапазоне эффективных коэффициентов диффузии. Это позволяет получить подробную информацию об интенсивности водного обмена гистоструктур головного мозга в норме и при патологии. В частности, 3D-модели дают возможность увидеть в трехмерном измерении распределение перифокального отека при опухолях головного мозга, локальной травме и кровоизлиянии в тканях головного мозга. С помощью этой технологии можно проследить динамику развития патологического процесса, проконтролировать эффективность действия применяемой терапии. 3D-модели водного обмена головного мозга, построенные по эффективным коэффициентам диффузии, дают пространственную картину о подвижности воды в его гистоструктурах (рис. 1).

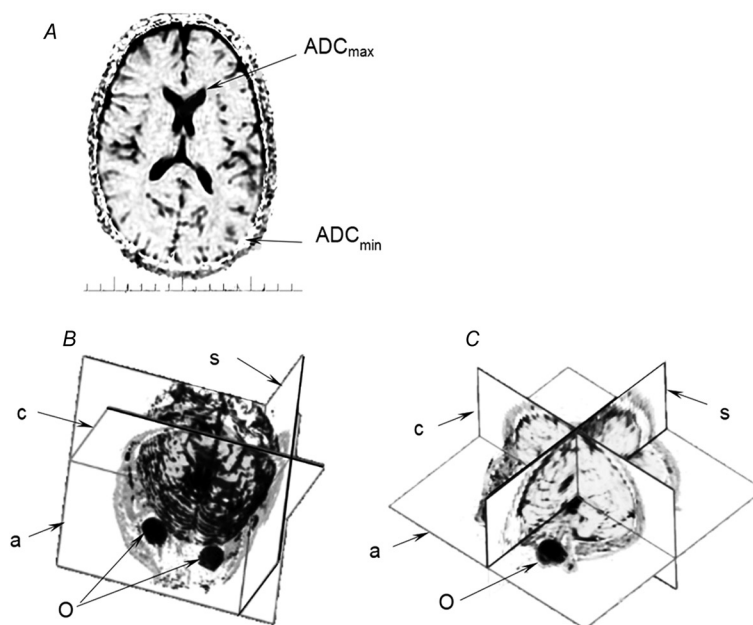


Рис. 1. Состояние водного обмена головного мозга по топографии распределения эффективных коэффициентов диффузии воды: A – на аксиальном магнитном срезе головного мозга (позитивное изображение; ADC_{max} соответствует максимальной подвижности воды в желудочках головного мозга, ADC_{min} – минимальному значению подвижности воды в костной ткани); B, C – в 3D-представлении (a – аксиальная плоскость, c – коронарная плоскость, s – сагиттальная плоскость, o – глазные яблоки)

Fig. 1. State of brain water exchange through the topography of the distribution of effective water diffusion coefficients: A – on the axial magnetic section of the brain (positive image; ADC_{max} corresponds to the maximal water mobility in the brain ventricles, ADC_{min} – to the minimal water mobility in the bone tissue); B, C – in the 3D-representation (a – axial plane, c – coronary plane, s – sagittal plane, o – eyeballs)

Иллюстрации, приведенные на рис. 1, дают представление о подвижности воды как в плоскости магнитного среза головного мозга, так и при 3D-построениях. Участки, где подвижность соответствует объемной воде (желудочки головного мозга, субарахноидальное пространство и глазные яблоки), отмечены темным цветом. Эффективный коэффициент диффузии здесь соответствует таковому объемной воды при 38 °С. В костной ткани подвижность минимальна. Все коэффициенты диффузии располагаются в масштабе оттенков серой шкалы. Участки, где подвижность ЦСЖ менее выражена, представлены различными градациями серого цвета. Для паренхимы головного мозга характерны промежуточные значения распределения эффективных коэффициентов диффузии. Размер вокселя здесь равен примерно 1 мм³. Это означает, что подвижность воды исследуется в относительно больших гистоструктурах (учитывая размер интерстициального пространства головного мозга, который составляет 20–60 нм) [8–10].

На рис. 2 приведены данные диффузионно-взвешенной МРТ-визуализации опухоли головного мозга. На рис. 2 различные варианты обработки данных нейровизуализации выполнены в программе Vidar Dicom Viewer. На срезах четко конструируется зона перитуморального отека, где подвижность воды возрастает.

С помощью характерного для перитуморального отека увеличения значений эффективных коэффициентов диффузии воды выделяется зона непосредственного доминирования эффектов, связанных с развитием злокачественной опухоли. Здесь осуществляется интенсивный ангиогенез, являющийся предпосылкой к разрастанию опухоли. Эта зона рассматривается как область, где возрастает интенсивность конвективных потоков, обеспечивающих поступление субстратов к опухоли, вынос метаболитов, повышенный газообмен и др.

В задачи исследования входило установление связи между величиной зоны перитуморального отека и коэффициентом асимметрии потока ЦСЖ в Сильвиевом водопроводе. Как указывалось выше, коэффициент асимметрии показывает направление глобального течения ЦСЖ. Основанием для такого исследования являлось представление о единстве водного пространства в замкнутом объеме головного мозга и наличие быстрого обмена воды между всеми его структурами.

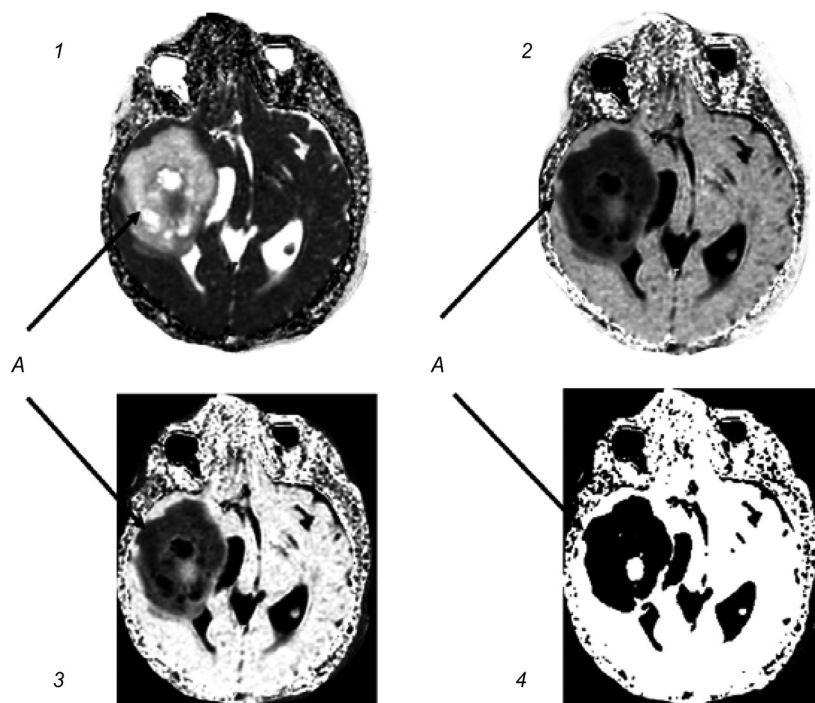


Рис. 2. Диффузная астроцитома (А) правого полушария головного мозга. Данные МРТ нейровизуализации представлены в эффективных коэффициентах диффузии: 1 – исходное представление данных; 2 – инвертированное изображение 1; 3 – отфильтрованное изображение 2; 4 – бинаризация изображения 2

Fig. 2. Diffuse astrocytoma (A) of the brain right hemisphere. The MRT neuroimaging data are expressed in effective diffusion coefficients: 1 – initial data; 2 – inverted image 1; 3 – filtered image 2; 4 – binarized image 2

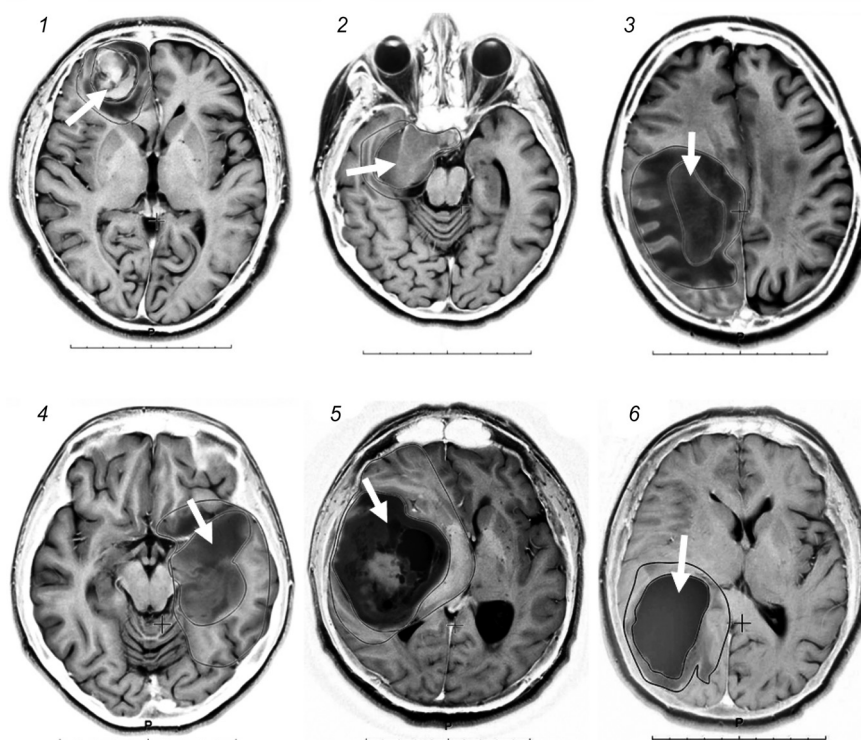


Рис. 3. Величина зоны перитуморального отека опухолей разной степени злокачественности по данным магнитно-резонансной нейровизуализации в режиме AxT_2 Propeller: 1 – астроцитома (Gr I) правой лобной области (м., 48 лет); 2 – менингиома (Gr I) параселярной области справа (ж., 35 лет); 3 – фибриллярная астроцитома (Gr II) правой теменной области (ж., 34 года); 4 – олигоастроцитома (Gr II) левой височной области (ж., 27 лет); 5 – диффузная астроцитома правой височной области с признаками анаплазии (Gr II–III) (м., 40 лет); 6 – глиобластома (Gr IV) правой височно-теменной области (ж., 61 год)

Fig. 3. Study of the data of MRT neuroimaging of the zone of peritumoral edema of tumors of different-degree malignancy. Brain MRT neuroimaging in AxT_2 Propeller: 1 – astrocytoma (Gr I) of the right frontal region (male, 48 years); 2 – meningioma (Gr I) (female, 35 years) of the right parasellar region; 3 – fibrillary astrocytoma (Gr II) of the right parietal region (female, 34 years); 4 – oligoastrocytoma (Gr II) of the left temporal region (female, 27 years); 5 – diffuse astrocytoma of the right temporal region with anaplasia signs (Gr II–III) (female, 40 years); 6 – glioblastoma (Gr IV) of the right temporal-parietal region (female, 61 years)

По степени злокачественности опухолей пациенты были разделены на три группы (Grade I, Grade II, Grade III–IV). Исследования выполняли в режиме фазоконтрастной T_2 -взвешенной магнитно-резонансной нейровизуализации, как показано на рис. 3. Площадь собственно опухоли (S_o) и площадь перитуморального отека (S_e) определяли с помощью программы Vidar Dicom Viewer на аксиальных срезах, как показано на рис. 3.

Коэффициенты асимметрии глобального потока ЦСЖ в Сильвиевом водопроводе в каждом случае определяли, как описано в разделе *Материалы и методы исследования*.

Рассчитывали показатели отношения площади перитуморального отека к площади опухоли. Эти данные, как и величины коэффициентов асимметрии, усредняли по группам и обрабатывали статистически. Результаты приведены на рис. 4.

Данные, представленные на рис. 4, демонстрируют четко выраженную связь между степенью злокачественности опухоли, величиной перифокального отека и величиной коэффициентов асимметрии потока. Увеличение перитуморального отека и увеличение значений коэффициентов асимметрии потока – однонаправленные события. На высокий уровень положительной связи между ними указывает значение коэффициента корреляции ($R = 0,96$).

Механизм движения жидкостей в гистоструктурах головного мозга в норме и при патологии в настоящее время является областью интенсивного изучения и острых научных дискуссий. На сегодня еще остается много «белых пятен» в понимании как собственно механизма водного обмена головного мозга, так и его нарушений, приводящих к развитию церебральных отеков [3, 4, 11, 12].

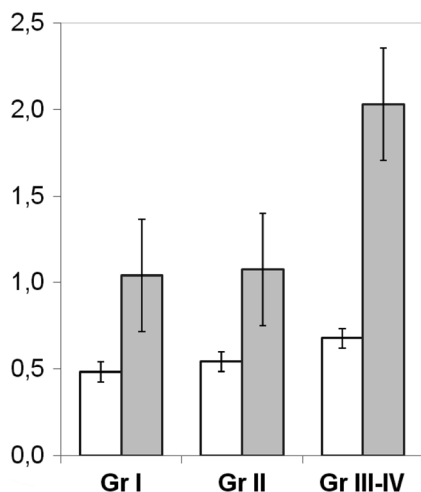


Рис. 4. Диаграмма значений коэффициентов асимметрии потока ЦСЖ в Сильвиевом водопроводе и соотношения S/S_0 при опухолях различной степени злокачественности. Белые столбики – показатели асимметрии потока K , столбики серого цвета – показатели отношения площади отека к площади опухоли. По оси ординат – безразмерные значения коэффициентов асимметрии потока и отношения площадей. Gr I, Gr II, Gr III–IV – уровни злокачественности опухоли по возрастающей

Fig. 4. Flow asymmetry coefficients of the cerebrospinal liquid in the Sylvian aqueduct and the ratios S/S_0 in tumors of different-degree malignancy. The white columns are the flow asymmetry index K ; the grey columns are the peritumoral edema-to-tumor area ratios. The axis of ordinates is the dimensionless flow asymmetry coefficients and area ratios. Gr I, Gr II, Gr III–IV are the tumor malignancy levels in increasing order

По ряду положений ортодоксальная концепция водного обмена головного мозга вступает в противоречие с новыми знаниями, поэтому, опираясь на нее, уже невозможно объяснить целый ряд последних экспериментальных и клинических наблюдений.

Больше возможностей для понимания механизма водного обмена головного мозга и его нарушений предоставляет новая концепция, согласно которой в водном обмене головного мозга участвуют все капилляры паренхимы мозга, а не преимущественно микрососуды хориоидального сплетения, как следует из классической теории [13].

Выполненные нами исследования нарушений водного обмена головного мозга при его опухолях критически анализируются с позиции как ортодоксальных, так и новых представлений с целью дать наиболее удовлетворительное объяснение полученным результатам.

Методы функциональной магнитно-резонансной нейровизуализации, применяемые в наших исследованиях, являются наиболее адекватными способами неинвазивного мониторинга водного обмена и позволяют получить важные диагностические критерии оценки церебрального водного обмена. При выполнении исследований применены оптимизированные способы обработки данных нейровизуализации с использованием специально подобранных компьютерных программ.

Оценка топографии эффективных коэффициентов диффузии воды, ее подвижности в тканях головного мозга у нейрохирургических больных с опухолями головного мозга различной степени злокачественности выполнена по данным магнитно-резонансной нейровизуализации как в плоскости магнитных срезов, так и в трехмерном представлении. Комплексное исследование распространения перитуморального отека проведено при одновременном определении характера течения ЦСЖ в Сильвиевом водопроводе. Количественно это устанавливалось по значениям коэффициентов асимметрии течения ЦСЖ. Все это позволило получить подробную информацию об интенсивности водного обмена в разных гистоструктурах головного мозга в норме и при патологии. Построение и анализ 3D-моделей водного обмена головного мозга по эффективным коэффициентам диффузии, выполненные с помощью метода магнитно-резонансной нейровизуализации, дали возможность установить пространственное расположение опухоли и перитуморального отека.

Комплексное исследование областей распространения перитуморального отека и определение величин коэффициентов асимметрии течения ЦСЖ в Сильвиевом водопроводе демонстрируют связь между степенью злокачественности опухоли, величиной перифокального отека и величиной коэффициентов асимметрии потока. Положительная корреляция между ними составляет 96 %. Направление течения ЦСЖ, как следует из значений коэффициентов асимметрии, краниокаудальное. Сохраняется колебательный возвратно-поступательный характера ее течения. Увеличение перитуморального отека и увеличение значений коэффициентов асимметрии потока – однонаправленные процессы.

По мере возрастания агрессивности опухоли, как свидетельствуют полученные данные, значительно увеличивается подвижность воды как в интерстициальном пространстве головного мозга, так и в ЦСЖ. Перитуморальный отек представляет собой область быстрых конвективных потоков в межклеточном наноразмерном пространстве головного мозга, окружающем новообразования. Конвекция воды обеспечивает активный газообмен, поставку субстратов, факторов регуляции обмена – всех тех составляющих, которые лежат в основе роста и распространения опухоли.

Известно, что увеличению массы опухоли предшествует образование новых капилляров и повышение экспрессии аквапорина AQP4. Это способствует локальной активации водного обмена и развитию перитуморального отека. Последний создает особую среду окружения опухоли, благоприятствующую ее пролиферации. Эти явления наблюдаются на фоне возрастания краниокаудального потока ЦСЖ.

С классических позиций о водном обмене головного мозга все эти результаты трудно объяснить. Согласно ортодоксальным представлениям, основным источником ЦСЖ является хориоидальное сплетение желудочков головного мозга [14]. Повышение секреции на этом уровне выглядит как локальное событие, не связанное с капиллярным обменом жидкости в паренхиме головного мозга. Кроме того, классическое представление не объясняют пульсирующий возвратно-поступательный характер движения ЦСЖ в Сильвиевом водопроводе.

Новые представления, согласно которым в водном обмене участвуют все капилляры паренхимы головного мозга, представляют больше возможностей для интерпретации этих результатов. Концептуальный механизм водного обмена головного мозга на уровне капилляров подробно описан нами ранее [15, 16]. Такое же мнение высказывается и другими авторами [13].

Теоретическое понимание проблемы обмена ЦСЖ, положенное в основу данной статьи, предполагает преимущественный обмен на уровне капилляров паренхимы головного мозга, а не хориоидального сплетения. ИЖ и ЦСЖ образуются путем фильтрации воды через стенки капилляров. Радиальный транспорт воды сопровождается параллельным переносом ионов, т. е. здесь имеет место изоосмотический перенос жидкости. Осциллирующие пульсации внутричерепного гидростатического давления, трансформация пульсовых колебаний стенок крупных внутримозговых артерий обеспечивают термодинамические условия движения жидкости. ИЖ и ЦСЖ представляют собой единое постоянно обменивающееся водное пространство головного мозга. ЦСЖ течет не как однонаправленный поток, что утверждает классическая теория, а ее движение характеризуется пульсирующим поступательно-возвратным движением [11]. Осциллирующий характер движения жидкостей головного мозга, доказанный на основе МРТ, невозможно объяснить, руководствуясь устоявшимися классическими представлениями.

Новое направление получило положительный импульс в связи с выяснением важной роли трансмембранных водных наноканалов – аквапоринов – в капиллярном переносе воды [17]. Все это кардинально меняет фундаментальные представления о патогенезе водного обмена и отеке тканей головного мозга. Аквапорины обеспечивают быстрый перенос воды между кровью и паренхимой головного мозга. Самый активный аквапорин AQP4 экспрессируется в мембране ножек астроцитов, охватывающих капилляры головного мозга. Он определяет величину обменного потока жидкости.

В многочисленных исследованиях последнего десятилетия показано, что аквапорины AQP1 и AQP4 играют важную роль в патогенезе злокачественных опухолей головного мозга. Они принимают участие в обеспечении подвижности клеток опухоли, ее инвазивности, образовании отека и регуляции метаболизма опухолей в условиях локальной гипоксии [18–21].

Конвекция ИЖ зависит от активности аквапорина AQP4, который выполняет кинетически лимитирующую роль в церебральном водном обмене [17, 22]. AQP4 обеспечивает быстрое локальное перемещение воды из периваскулярного пространства, что лежит в основе механизма контроля как собственно объема периваскулярного пространства, так и регуляции скорости церебральной перфузии [23].

Уровень экспрессии аквапоринов и их активность определяют способность клеток к регуляции своего объема. Клетки глиомы способны быстро изменять свой объем в ответ на изменение осмотического окружения и также спонтанно во время прохождения по узкому и извилистому внеклеточному пространству головного мозга. Эту возможность обеспечивает AQP1, который способствует росту клеток и их миграции. Экспрессия AQP1 коррелирует с уровнем злокачественности опухоли, интенсивностью ангиогенеза, инвазивностью опухоли и ее инфильтрацией. Следует отметить, что подавление экспрессии AQP1 рассматривается как способ уменьшения инвазивности клеток глиомы. Аквапорин AQP1 принимает также участие в формировании отека головного мозга [18–21, 23–25].

Установлено, что уровень экспрессии AQP4 также гораздо выше в глиомах, чем в окружающих нормальных тканях. Уровни экспрессии этого аквапорина в опухоли аналогичным образом коррелируют с высоким уровнем злокачественности глиомы.

Выраженность и распространенность ассоциированного с глиомой перитуморального отека определяется экспрессией AQP4, а также гипоксией и локальными изменениями осмотического давления [17–20, 23–25]. Высокий уровень экспрессии и совместная активность AQP1 и AQP4 – этих двух преобладающих аквапоринов головного мозга в клетках высокоагрессивных глиальных опухолей – способствует развитию перитуморального отека [18–20, 23–25].

Заключение. Как свидетельствуют полученные результаты, при опухолях отмечаются значительные изменения интенсивности водного обмена всего головного мозга. В Сильвиевом водопроводе, при сохранении возвратно-поступательного движения ЦСЖ, увеличивается скорость краниокаудального потока. Это можно рассматривать как компенсаторный механизм, направленный на компенсацию повышенной капиллярной фильтрации жидкости в паренхиме и повышенного внутричерепного давления.

Классические представления об обмене ЦСЖ не в состоянии объяснить полученные данные, и область их применения остается секрета жидкости собственно в хориоидальном сплетении. Представления, согласно которым в водном обмене участвуют все капилляры паренхимы головного мозга, дают больше возможностей для интерпретации этих результатов. Вместе с тем новые концептуальные взгляды требуют дальнейшего доказательства.

Одним из направлений проверки реальности новых представлений является компьютерное моделирование, развиваемое в нейрохирургическом отделе РНПЦ неврологии и нейрохирургии [26]. Математическое компьютерное моделирование движения ИЖ между капилляром и межклеточным пространством головного мозга, выполняемое с учетом современных клинических и экспериментальных данных, позволяет получить более полное представление о патогенезе отеков последнего. Разработанная модель хорошо описывает пульсирующий характер колебаний внутричерепного гидростатического давления, кинетическую роль AQP4 в радиальном транскапиллярном переносе жидкости и движение межклеточной жидкости в интерстициальном пространстве, осуществляемом по закономерностям нанофлюидики [16]. Результаты данного подхода могут быть использованы для оптимизации терапии пациентов с новообразованиями головного мозга и гидроцефалией.

Список использованных источников

1. Титовец, Э. П. Механизм осциллирующего движения жидкости в интерстициальном пространстве головного мозга / Э. П. Титовец // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : сб. ст. – Минск, 2016. – Ч. 1. – С. 385–387.
2. Eijkel, J. Nanofluidics: what is it and what can we expect from it? : review / J. Eijkel, A. Van den Berg // *Microfluid Nanofluid.* – 2000. – N 1. – P. 249–267.
3. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels / A. Louveau [et al.] // *Nature.* – 2015. – Vol. 523. – P. 337–341.
4. Molecular mechanisms of cerebrospinal fluid production / S. L. Brown [et al.] // *Neuroscience.* – 2004. – Vol. 129. – P. 955–960.
5. Метод диагностики нарушений циркуляции цереброспинальной жидкости головного мозга : инструкция по применению / А. Ф. Смянович, Э. П. Титовец, Л. П. Пархач, М. В. Талабаев, А. И. Антоненко, С. И. Каленчик, Е. В. Босякова / РНПЦ неврологии и нейрохирургии. – Минск, 2015.
6. Warach, S. Fast magnetic resonance diffusion-weighted imaging of acute human stroke / S. Warach // *Neurology.* – 1992. – Vol. 42 (9). – P. 1717–1723.
7. Околызин, А. В. Возможности магнитно-резонансной спектроскопии по водороду в характеристике опухолей головного мозга : дис. ... канд. мед. наук / А. В. Околызин. – СПб., 2007. – С. 206.
8. Nicholson, C. Modeling brain extracellular space from diffusion data / C. Nicholson // *Diffusion Fundamentals.* – 2007. – Vol. 6. – P. 75.1–75.15.
9. Thorne, R. G. *In vivo* diffusion analysis with quantum dots and dextrans predicts the width of brain extracellular space / R. G. Thorne, C. Nicholson // *PNAS.* – 2005. – Vol. 103 (14). – P. 5567–5572.
10. Sukova, E. Diffusion in brain extracellular space / E. Sukova, C. Nicholson // *Physiol. Rev.* – 2008. – Vol. 88. – P. 1277–1340.
11. A new look at cerebrospinal fluid circulation / T. Brinker [et al.] // *Fluids Barriers CNS.* – 2014. – Vol. 11. – P. 10.
12. Abbott, N. J. Evidence for bulk flow of brain interstitial fluid: significance for physiology and pathology / N. J. Abbott // *Neurochem. Int.* – 2004. – Vol. 45. – P. 545–552.

13. Orešković, D. A new look at cerebrospinal fluid movement / D. Orešković, M. Klarica // *Fluids Barriers CNS*. – 2014. – P. 11–16.
14. Davson, H. Physiology and pathophysiology of the cerebrospinal fluid / H. Davson, K. Welch, M. B. Segal. – Edinburgh : Churchill-Livingstone, 1987.
15. Определение параметров волн внутричерепного давления в диагностике отека и гипоксии головного мозга / Э. П. Титовец [и др.] // *Достижения мед. науки*. – 2014. – Вып. XVIII. – С. 41.
16. Титовец, Э. П. Новый концептуальный подход к рассмотрению водного обмена головного мозга, церебрального отека, гипоксии и ишемии / Э. П. Титовец, Л. П. Пархач // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : сб. ст. междунар. науч. конф. – Минск, 2014. – Ч. 1. – С. 339–341.
17. Титовец, Э. П. Аквапорины человека и животных : фундаментальные и клинические аспекты / Э. П. Титовец. – Минск: Белорус. наука, 2007. – С. 239.
18. Nagelhus, E. A. Physiological roles of aquaporin-4 in brain / E. A. Nagelhus, O. P. Ottersen // *Physiol Rev*. – 2013. – Vol. 93 (4). – P. 1543–1562.
19. Verkman, A. S. Aquaporins in clinical medicine / A. S. Verkman // *Ann. Rev. of Medicine*. – 2012. – Vol. 63. – P. 303–316.
20. Gundersen, G. A. Roles of aquaporin-4 in brain fluid dynamics : Thesis for the degree of Ph. D. / Institute of Basic Medical Sciences. Faculty of Medicine & Centre for Molecular Medicine, Norway University of Oslo. – 2013. – P. 112.
21. Aquaporin and brain diseases / J. Badaut [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2014. – Vol. 1840 (5). – P. 1554–1565.
22. MacAulay, N. Water transport between CNS compartments: contributions of aquaporins and cotransporters / N. MacAulay, T. Zeuthen // *Neuroscience*. – 2010. – Vol. 168. – P. 941–956.
23. Presence of aquaporin-4 and muscarinic receptors in astrocytes and ependymal cells in rat brain: a clue to a common function? / J. Badaut [et al.] // *Neurosci. Lett*. – 2000. – Vol. 292. – P. 75–78.
24. Human aquaporins: Regulators of transcellular water flow / R. E. Day [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2014. – Vol. 1840. – P. 1492–1506.
25. Corticosteroids induce expression of aquaporin-1 and increase transcellular water transport in rat peritoneum / M. S. Stoenoiu [et al.] // *J. of the Am. Soc. of Nephrol*. – 2003. – Vol. 14, N 3. – P. 555–565.
26. Титовец, Э. П. Исследование нарушений водного обмена головного мозга методами функциональной магнитно-резонансной визуализации / Э. П. Титовец, А. Ф. Смяянович, Л. П. Пархач // *Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук*. – 2015. – № 1. – С. 65–72.

References

1. Titovets E. P. The mechanism of oscillating fluid motion in the interstitial space of the brain. *Molekulyarnyye, membrannyye i kletochnyye osnovyy funktsionirovaniya biosistem. Sbornik statey* [Molecular, membrane and cellular bases of the functioning of biosystems. Digest of articles], Minsk, 2016, Part 1, pp. 385–387. (in Russian).
2. Eijkel J. Van den Berg A. Nanofluidics: what is it and what can we expect from it? : Review. *Microfluidics and Nanofluidics*, 2000, vol. 1, pp. 249–267.
3. Louveau A., Smirnov I., Keyes T. J., Eccles J. D., Rouhani S. J., Peske J. D., Derecki N. C., Castle D., Mandell J. W., Lee K. S., Harris T. H., Kipnis J. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*, 2015, vol. 523, pp. 337–341.
4. Brown S. L., Davies L. S., Speake T., Millar D. I. Molecular mechanisms of cerebrospinal fluid production. *Neuroscience*, 2004, vol. 129, pp. 955–996.
5. Smeyanovich A. F., Titovets E. P., Parkhach L. P., Talabayev M. V., Antonenko A. I., Kalenichik S. I., Basiakova K. V. Instruction for use “Method for diagnosing circulatory disorders of cerebrospinal fluid in the brain” State Scientific Center of Neurosurgery and Neurosurgery, Minsk, 2015. (in Russian).
6. Warach S. Fast magnetic resonance diffusion-weighted imaging of acute human stroke. *Neurology*, 1992, vol. 42 (9), pp. 1717–1723.
7. Okolzin A. V. Possibilities of magnetic resonance spectroscopy on hydrogen in the characterization of brain tumors. *Thesis for the degree of PhD*. St. Petersburg, 2007, p. 206. (in Russian).
8. Nicholson C. Modeling brain extracellular space from diffusion data. *Diffusion Fundamentals*, 2007, vol. 6, pp. 75.1–75.15.
9. Thorne R. G., Nicholson C. *In vivo* diffusion analysis with quantum dots and dextrans predicts the width of brain extracellular space. *PNAS*, 2005, vol. 103 (14), pp. 5567–5572.
10. Sukova E., Nicholson C. Diffusion in Brain Extracellular Space. *Physiological Reviews*, 2008, vol. 88, pp. 1277–1340.
11. Brinker T., Stopa E., Morrison J., Klinge P. A new look at cerebrospinal fluid circulation. *Fluids Barriers CNS*, 2014, vol. 11, p. 10.
12. Abbott N. J. Evidence for bulk flow of brain interstitial fluid: significance for physiology and pathology. *Neurochemistry International*, 2004, vol. 45, pp. 545–552.
13. Orešković, D., Klarica, M. A new look at cerebrospinal fluid movement. *Fluids Barriers CNS*, 2014, pp. 11–16.
14. Davson H., Welch K., Segal M. B. Physiology and pathophysiology of the cerebrospinal fluid. Edinburgh, Churchill-Livingstone, 1987.
15. Titovets E. P. Determination of the parameters of intracranial pressure waves in the diagnosis of edema and hypoxia of the brain. *Dostizheniya meditsinskoi nauki* [Achievements of Medical Science], 2014, issue XVIII, p. 41. (in Russian).
16. Titovets E. P. A new conceptual approach to the consideration of water metabolism of the brain, cerebral edema, hypoxia and ischemia. *Molekulyarnyye, membrannyye i kletochnyye osnovyy funktsionirovaniya biosistem. Sbornik statey*

[Molecular, Membrane and Cellular Basis for the Functioning of Biosystems: Digest of articles.]. Minsk, 2014, part 1, pp. 339–341. (in Russian).

17. Titovets E. P. Aquaporines of man and animals. Fundamental and clinical aspects: monograph. Minsk : Belarusian Science, 2007, p. 239. (in Russian).

18. Nagelhus E. A. Physiological roles of aquaporin-4 in brain. *Physiological Reviews*, 2013, vol. 93 (4), pp. 1543–1562.

19. Verkman A. S. Aquaporins in clinical medicine. *Annual Review of Medicine*, 2012, vol. 63, pp. 303–316.

20. Gundersen G. A. Roles of aquaporin-4 in brain fluid dynamics. Thesis for the degree of PhD. Institute of Basic Medical Sciences. Faculty of Medicine & Centre for Molecular Medicine Norway University of Oslo, 2013, p. 112.

21. Badaut J., Fukuda A. M., Jullienne A., Petry K. G. Aquaporin and brain diseases. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, vol. 1840 (5), pp. 1554–1565.

22. MacAulay N., Zeuthen T. Water transport between CNS compartments: contributions of aquaporins and cotransporters. *Neuroscience*, 2010, vol. 168, pp. 941–956.

23. Badaut J., Verbavatz J. M., Freund-Mercier M. J., Lasbennes F. Presence of aquaporin-4 and muscarinic receptors in astrocytes and ependymal cells in rat brain: A clue to a common function? *Neuroscience Letters*, 2000, vol. 292, pp. 75–78.

24. Day R. E., Kitchen P., Owen D. S., Bland C., Marshall L., Conner A. C., Bill R. M., Conne M. T. Human aquaporins: Regulators of transcellular water flow. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, vol. 1840, pp. 1492–1506.

25. Stoenoiu M. S. Corticosteroids induce expression of aquaporin-1 and increase transcellular water transport in rat peritoneum. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2003, vol. 14, no. 3, pp. 555–565.

26. Titovets E. P., Smeyanovich A. F., Parkhatch L. P. Investigation of water brain metabolism disorders by the methods of functional magnetic resonance imaging. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series, 2015, no. 1, pp. 65–72 (in Russian).

Информация об авторах

Пархач Людмила Петровна – канд. биол. наук, доцент, ученый секретарь. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: parkhachlp@mail.ru.

Ашууров Рахманкул Гурезович – канд. мед. наук, докторант. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь).

Смеянович Арнольд Федорович – академик, д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ninh@mail.ru.

Титовец Эрнст Петрович – д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: eptitovets@gmail.com.

Босякова Екатерина Владимировна – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: basiakova.k.v@gmail.com.

Information about the authors

Lyudmila P. Parkhach – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor, Scientific Secretary. Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: parkhachlp@mail.ru.

Rahmankul G. Ashurov – Ph. D. (Med.), doctorate thesis researcher. Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus).

Arnold F. Smeyanovich – Academician, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ninh@mail.ru.

Ernst P. Titovets – D. Sc. (Biol.), Professor, Chief researcher. Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: eptitovets@gmail.com.

Katerina V. Basiakova – Researcher. Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: basiakova.k.v@gmail.com.

АГЛЯДЫ
SURVEYS

УДК 579.252.2

Поступила в редакцию 07.07.2017

Received 07.07.2017

А. Н. Хархаль, Л. П. Титов*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
Минск, Республика Беларусь***ИММУННАЯ СИСТЕМА ПРОКАРИОТ:
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, ПРИМЕНЕНИЕ В МИКРОБИОЛОГИИ**

Аннотация. Система CRISPR/Cas за короткие сроки завоевала популярность среди ученых различных областей медицинских, биологических и химических наук. Данная система, кассета которой состоит из кодирующих Cas-белки генов лидерной последовательности, спейсеров и палиндромов, используется для защиты собственного генома от чужеродного генетического материала прокариоты. Cas-белки являются ключевым звеном, без которых эта система не способна выполнять свои функции. При взаимодействии с чужеродной ДНК система CRISPR/Cas проходит три этапа: иммунизацию, экспрессию и интерференцию. Иммунизация происходит при первичном контакте клетки с чужеродной ДНК с запоминанием информации об инвазивном агенте. При повторной встрече отмечается образование белкового комплекса и разрушение чужеродной ДНК. Различия в механизме процесса зависят от класса и типа системы CRISPR/Cas. Различают 2 класса системы CRISPR/Cas, которые разделены на 5 типов и 16 подтипов. Для поиска CRISPR у бактерий используются биоинформационные методы, разработаны специализированные программы. В связи с высокой эффективностью работы и простотой сборки отдельных компонентов в лабораторных условиях CRISPR/Cas стали применять для решения широкого круга задач в микробиологии, генетике, молекулярной эпидемиологии, геномной инженерии, прикладной медицине и фармакологии для редактирования геномов, контроля экспрессии генов, лечения и моделирования патологических процессов, типирования микроорганизмов, определения филогенетических отношений между ними и др. Для редактирования генома эукариот хорошо зарекомендовала себя система CRISPR/Cas9 *N. meningitidis*. Однако эксперименты в области редактирования человеческого генома сопряжены с биоэтическими проблемами.

Ключевые слова: система CRISPR/Cas, иммунизация, экспрессия, интерференция, редактирование генома

Для цитирования: Хархаль, А. Н. Иммунная система прокариот: молекулярные механизмы, применение в микробиологии / А. Н. Хархаль, Л. П. Титов // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 3. – С. 121–128.

A. N. Kharkhal, L. P. Titov*Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus***PROCARIOTIC IMMUNE SYSTEM: MOLECULAR MECHANISMS, APPLICATION IN MICROBIOLOGY**

Abstract. During a short time, the CRISPR/Cas system has gained popularity among scientists in various fields of medicine, biology, and chemistry. Prokaryotes use the CRISPR/Cas system to protect their own genome from foreign genetic material, the cassette of which consists of Cas-protein coding genes, leader sequence, spacers and palindromes. Cas-proteins are the main thing without which the CRISPR/Cas system cannot work. While interacting with foreign DNA, the CRISPR/Cas system passes 3 stages: immunization, expression, and interference. Immunization takes place during the first bacterial contact with foreign DNA collecting information about an invasive agent. The next meeting reveals the protein complex creation and the foreign DNA destruction. The differences in the mechanisms of action depend on the system class and type. There are 2 classes of the CRISPR/Cas system separating into 5 types and 16 subtypes. Bioinformation methods are used to find the CRISPR/Cas system in a bacterial cell. Due to the high efficiency and the easy individual component assembly, scientists quickly learned how to benefit from the CRISPR/Cas system, applying it for a wide range of tasks. The CRISPR/Cas system is used in microbiology, genetics, molecular epidemiology, gene engineering, applied medicine, and pharmacology for genome editing, gene expression control, pathological process treatment and modeling, microorganism typing, determination of phylogenetic relationships of microorganisms and so on. The CRISPR/Cas system of *N. meningitidis* can successfully edit eucariotic genome. But experiments with human genome are connected with biomedical ethics.

Keywords: CRISPR/Cas system, immunization, expression, interference, genome editing

For citation: Kharkhal A. N., Titov L. P. Procariotic immune system: molecular mechanisms, application in microbiology. *Vesti Natsyynal'най akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 121–128 (in Russian).

Введение. Мир микробов разнообразен вследствие необычайно высокой изменчивости и дивергенции предковых форм. Эволюция генома бактерий – биологический процесс, посредством которого содержащаяся в клетке генетическая информация изменяется во времени либо под воздействием факторов окружающей среды, включая бактериофаги и ДНК других микроорганизмов. В этом процессе участвует множество механизмов: точечные мутации, генетические перестройки (инверсии, транслокации, делеции, дупликации), интеграция плазмид, транспозонов и прочего чужеродного генетического материала [1, 2].

В процессе эволюции прокариоты создали уникальную защитную систему против проникновения извне в геном чужеродного генетического материала. В 1987 г. группа японских ученых, исследуя геном *Escherichia coli*, обнаружила повторяющиеся участки ДНК, разделенные неповторяющимися последовательностями, но не придали этому значения [3]. Затем в 1993 г. испанский исследователь обнаружил подобные участки в геноме археи *Haloferax mediterranei*, а в 2000 г. они были выявлены еще у 20 видов микроорганизмов. Эта система, называемая CRISPR-Cas (от англ. *clustered regularly interspaced short palindromic repeats* – короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами), представляет собой участок генома микроорганизмов, состоящий из многочисленных повторов. Через 2 года нидерландские ученые обнаружили гены, кодирующие белки Cas, связанные с системой CRISPR [4]. Классификация систем CRISPR, а также предположительный механизм их работы были предложены в 2006 г. [5]. Отношение системы CRISPR к адаптивному иммунитету прокариот, а также ключевая роль Cas-белков были экспериментально доказаны в 2007 г. Изучение механизмов действия углублялось, и в 2008 г. была показана способность данной системы осуществлять ДНК-интерференцию [6].

Благодаря открытиям, касающимся строения и функций системы CRISPR-Cas, уже в 2012 г. стало возможным впервые экспериментально апробировать первую искусственную систему CRISPR II, а в 2013 г. была показана успешность ее применения как в клетках бактерий *in vitro*, так и в клетках эукариот [6]. В 2015 г. группа китайских ученых опубликовала результаты своих исследований по редактированию генома эмбрионов человека, однако точность редактирования была крайне низкой. Редактирование генома человека сопряжено с определенными биоэтическими проблемами, и подобный эксперимент вызвал неоднозначную реакцию в обществе. Тем не менее, исследования по редактированию человеческого генома не были остановлены, и в 2016 г. группа ученых из США сообщила, что им удалось повысить точность редактирования [7]. Эксперименты по совершенствованию методов редактирования геномов продолжаются.

Таким образом, механизмы адаптивного иммунитета на уровне генома характерны не только для эукариот. Имеются также доказательства, свидетельствующие о причастности системы CRISPR к другим биологическим процессам.

Характеристика системы CRISPR-Cas. В строении системы CRISPR бактерий при общем сходстве имеются некоторые различия (рис. 1) [6, 8, 9]. Число локусов CRISPR варьируется от 1 (*M. tuberculosis*, *N. meningitidis*) до 20 (*M. jannaschii*), а количество повторов внутри локуса может быть от 2 до 124 [4, 10].

Cas-гены. Системы CRISPR включают *cas*-гены, кодирующие Cas-белки. Каждый класс CRISPR содержит свой набор *cas*-генов, расположенных с двух сторон CRISPR-локуса. Последовательность расположения *cas*-генов зависит от вида микроорганизма, однако у многих из них они расположены в следующем порядке: *cas3–cas4–cas1–cas2* [4, 11]. Гены *cas1* и *cas2* имеются во всех системах, в то время как *cas3/cas7*, *cas9* и *cas10* характерны для систем I, II и III типов соответственно [12]. Cas-белки относятся к различным семействам, но, как правило, содержат домены с полимеразной, хеликазной и нуклеазной активностью. Гены, кодирующие Cas-белки, подразделяются на обязательные, присутствие которых в геноме указывает на наличие системы CRISPR, и дополнительные, которые могут быть найдены в некоторых из них [13].

Без участия Cas-белков система CRISPR не может выполнять функции адаптивного иммунитета. В табл. 1 представлены характеристики некоторых Cas-белков [9, 14]. Установлено, что последние принимают участие в процессах интерференции (т. е. защите генома от чужеродной генетической информации) и формировании новых спейсеров. Помимо адаптивного иммунитета эти белки участвуют и в других процессах [9, 14, 15]: а) регуляции экспрессии генов посредством разрушения мРНК; б) регуляции генов группового поведения; в) изменении вирулентности за счет модификации поверхностных структур (Cas9); г) ремоделировании генома; д) репарации ДНК (Cas1); е) апоптозе клетки при фаговой инфекции (Cas1 и Cas2) [4, 8, 16].



Рис. 1. Схема строения системы CRISPR [9]

Fig. 1. Scheme of constructing the CRISPR/Cas system [9]

Лидерная последовательность – последовательность нуклеотидов длиной до 550 п. н., содержащая богатые АТ участки. Она граничит с CRISPR на 5'-конце и принимает участие во встраивании фрагментов ДНК в геном в виде новых спейсеров. Служит в качестве промотора для транскрипции CRISPR [9].

Таблица 1. Cas-белки и их функции
Table 1. Cas-proteins and their functions

Белок	Функциональная характеристика
Cas1	Металлозависимая эндонуклеаза ДНК, универсальный маркер CRISPR-Cas-системы; участвует в захвате и встраивании новых спейсеров
Cas2	Специфическая эндорибонуклеаза; проявляет ДНКазную и РНКазную активность
Cas3	Есть во всех CRISPR-Cas-системах I типа; содержит 7 функциональных доменов, среди которых хеликазный SF2 и нуклеазный HD; вводит разрывы в ДНК-мишени, инициируя деградацию
Cas4	recB-подобная нуклеаза; участвует в захвате и встраивании новых спейсеров
Cas5	Семейство RAMP-белков (PAMP – pathogen-associated molecular patterns)
Cas6	Семейство RAMP-белков; металлозависимая эндорибонуклеаза; участвует в образовании сгРНК
Cas7	Участвует во встраивании новых спейсеров
Cas8	Участвует в интерференции
Cas9	Есть во всех CRISPR-Cas-системах II типа; содержит HNH и RuvC – эндонуклеазные домены, участвует в процессинге и накоплении сгРНК, в процессе интерференции; есть аналоги, расщепляющие молекулы РНК
Cas10	Есть во всех CRISPR-Cas-системах III типа; содержит Palm-домен (РНК-распознающий домен), обладает ДНКазной активностью, участвует в интерференции

Спейсеры – уникальные фрагменты чужеродной ДНК длиной 27–72 п. н., приобретаемые в результате иммунизации. Иммунизация бактерий представляет собой копирование и вставку чужеродных генетических элементов в кассету CRISPR. В одной кассете число таких повторов различается и зависит от вида чужеродных агентов, с которыми контактировала клетка. Последовательности спейсеров обычно гомологичны ДНК бактериофагов, плазмид и других внехромосомных факторов наследственности. Встраивание в геном новых спейсеров осуществляется со стороны лидерной последовательности. В результате они располагаются в хронологической последовательности [14, 20]. Спейсеры интегрированы с геномом клетки и передаются по наследству (вертикально). Во избежание чрезмерного увеличения генома у бактерий интеграция новых спейсеров сочетается с делецией избыточных генов [8, 11].

Палиндромы представляют собой короткие (до 40 нуклеотидов) прямые повторы, разделяющие спейсеры. Они обеспечивают возможность формирования вторичной структуры зрелой сгРНК.

Молекулярные механизмы функционирования CRISPR-Cas системы. Молекулярный механизм защиты генома системой CRISPR-Cas от чужеродной генетической информации состоит из следующих этапов [8, 9, 14–16]: иммунизации, экспрессии CRISPR (формирование зрелых сгРНК), интерференции (узнавание и деструкция чужеродной ДНК либо РНК).

Ответная реакция бактериальной клетки на проникновение извне чужеродной информации зависит от того, встречалась ли она с данной чужеродной ДНК или РНК ранее, либо же это первое взаимодействие. Отмечено, что при повторной встрече бактерии с одним и тем же фагом клетки могут встраивать различные отличающиеся последовательности генома данного фага. В результате популяция клеток становится более защищенной и способна эффективней бороться с фагами даже при условии возникновения в них мутаций [17].

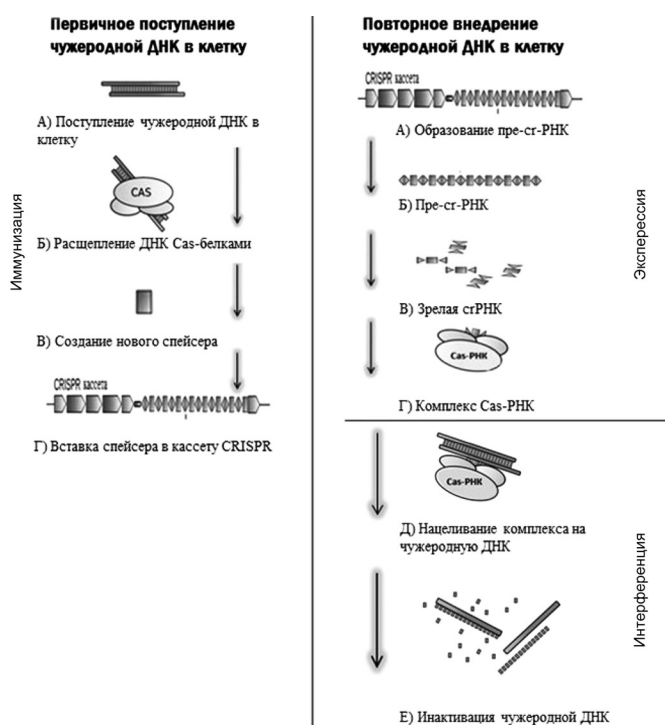


Рис. 2. Схематичное функционирование системы CRISPR-Cas: иммунизация (взаимодействие вирусной ДНК с Cas-белками, создание нового спейсера, встраивание в кассету), экспрессия (транскрипция кассеты, создание процессированной РНК, встраивание в комплекс с Cas-белками), интерференция (нацеливание и инактивация вирусной ДНК)

Fig. 2. Schematic functioning of the CRISPR/Cas system: immunization (interaction of viral DNA with Cas-proteins, making of a new spacer, insertion into the cassette), expression (cassette transcription, insertion of processed RNA, insertion into the Cas-protein complex), interference (targeting and inactivation of viral DNA)

При повторной встрече бактерии с известной чужеродной ДНК (РНК) начинается образование сгРНК из пре-сгРНК. Затем зрелые сгРНК встраиваются в каскадный комплекс, состоящий из Cas-белков, и инициируется CRISPR-интерференция. Механизм интерференции и состав каскадного комплекса зависят от класса и типа системы CRISPR-Cas [5, 9, 14, 18].

Классы и типы систем CRISPR-Cas. Существует 2 класса систем CRISPR-Cas, подразделяющихся на 5 типов и 16 подтипов. К классу 1 относятся типы I, III и IV, а к классу 2 – типы II и V [19, 20]. Тип VI, относящийся к классу 2, был предсказан методами биоинформационного анализа. Механизм его действия изучается [9, 14, 19, 20].

Для предотвращения аутоиммунной агрессии, т. е. реагирования системы CRISPR-Cas в отношении мишеней собственного генома, бактерия имеет возможность различать инородный генетический элемент от компонентов собственного генома. У одних систем это происходит за счет распознавания особой последовательности PAM (protospacer adjacent motif), предшествующей протоспейсеру. В других системах она обусловлена комплементарностью сгРНКtag и последовательности CRISPR [8, 11]. Регуляция активности системы CRISPR-Cas осуществляется посредством белка Aсг, который связывается с Cas3-сгРНК через домены Cas3, ингибируя транскрипцию ДНК [21, 22].

Класс 1, тип I характеризуется наличием белка Cas3, проявляющим как нуклеазную, так и хеликазную активность за счет доменов HD и SF2 соответственно. Действие данной системы начинается с созревания сгРНК из пре-сгРНК. Далее формируется каскадный комплекс, включающий Cas3-белок и сгРНК. Cas3 вносит разрывы в молекулу ДНК, что приводит к ее деградации [14, 20]. Белок Cse1, распознающий мотив PAM, тормозит деградацию ДНК и защищает геном от аутоиммунной агрессии [23]. Система CRISPR-Cas I типа обнаружена у таких микроорганизмов, как *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia pestis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Mycococcus xanthus*, *Pectobacterium atrosepticum* [6, 9, 24].

Класс 1, тип III ассоциируются с белком Cas10, содержащим Palm-домен, аналогичный РНК-распознающим доменам полимераз. Cas10, работая в паре либо с белком Csm (подтип IIIA), либо с белком Cmr (подтип IIIB), отвечает за ДНКазную активность комплекса интерференции, в то время как белки Csm и Cmr проявляют рибонуклеазную активность. Таким образом, комплекс интерференции системы CRISPR-Cas III типа обладает активностью как в отношении РНК, так и в отношении ДНК.

Созревание сгРНК происходит следующим образом: не входящая в состав комплекса интерференции рибонуклеаза Cas6 разрезает последовательности CRISPR на спейсеры, фланкируемые с обеих сторон. Так формируется сгРНКtag, который представляет собой 8 нуклеотидов 5'-фланкирующего конца. Далее в зависимости от подтипа сгРНК включается в комплексы с белками Csm или Cmr, где и происходит дополнительный процессинг со стороны 3'-конца [11]. Защита генома от аутоиммунной агрессии основана на комплементарности сгРНКtag и последовательности CRISPR. Если комплементарность полная, то процесс интерференции не запускается. Бактерии *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus thermophilus*, *Thermus thermophilus*, *Pyrococcus furiosus*, *Marinomonas mediterranea* содержат CRISPR-Cas систему III типа [6, 13].

Класс 1, тип IV. В данной системе имеется ген *csf1*, ассоциированный с генами *cas5* и *cas7*. Но так как у этих генов нет связи с CRISPR, то, вероятнее всего, их функции не связаны с адаптивным иммунитетом [14].

Класс 2, тип II. В комплексе интерференции данного типа содержится белок Cas9, имеющий эндонуклеазные домены HNH и RuvC, сгРНК и tracrPНК, комплементарной CRISPR-повторам. Формирование зрелой сгРНК из пре-сгРНК происходит при участии tracrPНК и РНКазы III. Далее комплекс интерференции, включающий сгРНК, tracrPНК и Cas9, распознает последовательность PAM в ДНК-мишени, формирует R-петлю и вводит разрывы в цепи ДНК, завершая таким образом процесс деградации [7, 14, 25, 26]. Подобно системе класса 1 типа I, защиту против аутоиммунной агрессии осуществляет белок Cse1, распознающий предшествующий протоспейсеру мотив PAM [23]. Система CRISPR-Cas II типа выявлена у следующих бактерий: *Neisseria meningitidis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Campylobacter jejuni*, *Francisella novicida*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus agalactiae* [24, 25].

Класс 2, тип V содержит белок Cpf1, схожий с белками Cas9 наличием RuvC-нуклеазного домена и отличается отсутствием HNH-нуклеазного домена. В некоторых случаях для созревания сгРНК не нужны РНКазы III и tracrPНК, в связи с чем можно предположить, что белок Cpf1 сам катализирует процесс созревания сгРНК. Далее процесс интерференции и защита генома от аутоиммунной агрессии происходят по аналогии с характерными для типа II класса 2 [23, 25, 26].

Методы анализа системы CRISPR-Cas в геноме бактерий. Исследование систем CRISPR-Cas осуществляется при помощи биоинформационных программ, основанных на математических методах компьютерного анализа последовательностей нуклеотидов.

MacSyFinder (Macromolecular System Finder) – программа для моделирования свойств молекулярных систем, их компонентов, эволюционных связей с другими организмами. Программа позволяет анализировать

данные как полногеномного секвенирования бактерий, так и данные метагеномных образцов. MacSyFinder рассматривает три типа компонентов: обязательные (mandatory), идентифицируемые во всех системах CRISPR, дополнительные (accessory) – компоненты, которые могут иметь значение для сборки и функционирования системы, но не могут быть идентифицированы в связи с быстрой эволюцией), и некоторые специфические фрагменты, условно обозначаемые (в зависимости от целей и задач эксперимента) как запрещенные (forbidden).

Для работы MacSyFinder требуются дополнительные программные обеспечения Hmmer и makeblastdb для поиска точной гомологии последовательностей. В качестве языка программирования используется Python. Программа MacSyView позволяет визуализировать данные, полученные в MacSyFinder. Расшифровка CRISPR-кассет осуществляется при помощи онлайн-приложения «CRISPR: a CRISPR Interactive database» на Gen Quest Bioinformatics Platform [12]. Программа MacSyFinder имеется в свободном доступе на сайте <https://github.com/gem-pasteur/macsyfinder>. Она совместима с любыми платформами, поддерживающими Python, Hmmer и makeblastdb.

Для просмотра полученных результатов анализа используется приложение MacSyView, которое доступно по ссылке <https://github.com/gem-pasteur/macsyview>.

CRISPRFinder – программа для идентификации систем CRISPR-Cas в геноме бактерий. Программа использует язык программирования Perl и работает с файлами в формате fasta, содержащими последовательности ДНК до 67 Мб. Возможные места нахождения CRISPR определяются наличием максимального количества повторов. Программа доступна по следующей ссылке: <http://crispr.u-psud.fr/Server/CRISPRfinder.php> [24].

Применение системы CRISPR-Cas в биологии и медицине. Системы CRISPR-Cas инвазивных бактерий *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus thermophilus* и *Neisseria meningitidis* были адаптированы для использования в биоинженерных целях. Чтобы системы работали, белок Cas9 и sgPНК (синтетическая PНК, включающая в себя crPНК и tracrPНК) должны быть введены в клетки и экспрессированы. Направление Cas9 к сайту-мишени осуществляется за счет аналога протоспейсера sgPНК (20 нуклеотидов на ее 5'-конце). Сайт-мишень должен находиться непосредственно на 5'-конце мотива PAM [7, 22, 27]. Таким образом, для разрезания ДНК *in vitro* необходимы следующие компоненты: белок Cas9, пре-crPНК и tracrPНК, PНКазы III. Cas9 осуществляет как процессинг пре-crPНК, так и CRISPR-интерференцию. Белок реагирует на мотив PAM. Последовательности PAM, которые распознаются белками Cas9 в бактериальных системах CRISPR/Cas, представлены в табл. 2 [27, 28]. Система Nme является более точной, так как последовательность PAM длиннее, следовательно, специфичность повышается за счет снижения количества нецелевых сайтов-мишеней. Различия в активности систем Nme и Spy могут быть также связаны с размером белков Cas9. Это может влиять на такие моменты, как доступ к сайту-мишени, стабильность связывания, раскручивание и разрезание ДНК [26, 28].

Т а б л и ц а 2. Бактериальные системы CRISPR/Cas9 стрептококков и нейссерий

T a b l e 2. Bacterial CRISPR/Cas9 systems of streptococci and neisseria

Система CRISPR/Cas	Микроорганизм	PAM-мотив
Spy	<i>Streptococcus pyogenes</i>	5'-NGG-3' реже 5'-NAG-3'
Nme	<i>Neisseria meningitidis</i>	5'-NNNNGATT-3' 5'-NNNNGCTT-3' 5'-NNNNGTTT-3'
Sth	<i>Streptococcus thermophiles</i>	5'-NNAGAAW-3'

Следующим обязательным компонентом системы является crPНК и tracrPНК, которые могут быть сшиты в единую sgPНК. Задача sgPНК – найти мотив PAM. CRISPR-Cas система может работать как с одной sgPНК, так и с двумя – crPНК и tracrPНК [15, 26]. Присутствие PНКазы III обязательно для системы Nme при редактировании бактериального генома, в то время как для работы с эукариотическими клетками PНКазы III не обязательна в связи с наличием собственных PНКаз клетки [29].

Заключение. Таким образом, в процессе эволюции прокариоты сформировали механизм защиты против внедрения чужеродного генетического материала путем формирования адаптивного иммунитета не только у контактировавшей с чужеродной ДНК (PНК) клеткой, но и у потомков иммунизированной клетки в последующих поколениях. В микробиологии и молекулярной эпидемиологии системы CRISPR-Cas могут использоваться для типирования штаммов микроорганизмов, выявления их происхождения и географического распространения, филогенетических отношений между ними, получения новой информации о микробиоме человека [9].

Систему CRISPR-Cas также можно применять для активации и репрессии транскрипции генов с целью изучения транскрипционных сетей, изменения топологии ДНК, изучения модификаций хроматина, регуляции экспрессии генов, селекции клеток [27, 29, 30].

В медицине методы, основанные на системах CRISPR-Cas, могут применяться для лечения наследственных [31, 32], аллергических [33], иммунологических, онкологических [34] и прочих заболеваний [35], а также вирусных и прионных инфекций [11], выполнения фундаментальных исследований (например,

в опытах на экспериментальных животных при моделировании заболеваний человека) [36], в скрининге лекарственных препаратов и пр. [29, 37].

Применение систем CRISPR-Cas в биотехнологии позволяет модифицировать метаболические пути микроорганизмов и таким образом создавать технологически значимые штаммы, новые трансгенные виды [38] и организмы с важными сельскохозяйственными характеристиками [39, 40].

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Титов, Л. П. Классификация, номенклатура и эволюция значимых для медицины бактерий / Л. П. Титов // Мед. журн. – 2006. – № 1. – С. 13–18.
2. Эволюция мира микробов и ее медицинское значение / Л. П. Титов [и др.] // Здоровоохранение. – 2002. – № 8. – С. 30–35.
3. Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase sozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product / Y. Ishino [et al.] // J. of Bacteriol. – 1987. – Vol. 169, N 12. – P. 5429–5433.
4. Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes / R. Jansen [et al.] // Mol. Microbiol. – 2002. – Vol. 43, N 6. – P. 1565–1575.
5. A putative RNA-interference-based immune system in prokaryotes: computational analysis of the predicted enzymatic machinery, functional analogies with eukaryotic RNAi, and hypothetical mechanisms of action / K. S. Makarova [et al.] // Biology Direct. – 2006. – Vol. 1. – P. 7.
6. Sontheimer, E. J. The bacterial origins of the CRISPR genome-editing revolution / E. J. Sontheimer, R. Barrangou // Human Gene Therapy. – 2015. – Vol. 26, N 7. – P. 413–424.
7. Rationally engineered Cas9 nucleases with improved specificity / I. M. Slaymaker [et al.] // Science. – 2016. – Vol. 351 (6268). – P. 84–88.
8. Barrangou, R. The roles of CRISPR-Cas systems in adaptive immunity and beyond / R. Barrangou // Curr. Opin. in Immunol. – 2015. – Vol. 32. – P. 36–41.
9. Пашникова, А. В. Структура и функциональная роль CRISPR-системы бактерий / А. В. Пашникова, А. А. Горяев, Н. И. Смирнова // Проблемы особо опасных инфекций. – 2011. – № 2 (108). – С. 49–52.
10. Bacterial CRISPR: accomplishments and prospects / J. M. Peters [et al.] // Curr. Opin. in Microbiol. – 2015. – Vol. 27. – P. 121–126.
11. RNA-guided RNA cleavage by a CRISPR RNA-Cas protein complex / C. R. Hale [et al.] // Cell. – 2009. – Vol. 139, N 5. – P. 945–956.
12. MacSyFinder: a program to mine genomes for molecular systems with an application to CRISPR-Cas systems / S. S. Abby [et al.] // PLOS ONE. – 2014. – Vol. 9, N 10. – P. 1–9.
13. Использование биоинформационных программных методов для поиска CRISPR/Cas систем в геномах штаммов *Staphylococcus aureus* / А. Ю. Борисенко [и др.] // Сибир. мед. журн. (Иркутск). – 2015. – Т. 133, № 2. – С. 71–74.
14. Savitskaya, E. E. Diversity of CRISPR-Cas-mediated mechanisms of adaptive immunity in prokaryotes and their application in biotechnology / E. E. Savitskaya, O. S. Musharova, K. V. Severinov // Biochemistry. – 2016. – Vol. 81, N 7. – P. 653–661.
15. Lee, C. The *Neisseria meningitidis* CRISPR-Cas9 System enables specific genome editing in mammalian cells / C. Lee, T. Cradick, G. Bao // Mol. Therapy. – 2016. – Vol. 24, N 3. – P. 645–654.
16. Barrangou, R. Diversity of CRISPR-Cas immune systems and molecular machines / R. Barrangou // Genome Biol. – 2015. – Vol. 16. – P. 247–257.
17. The diversity-generating benefits of a prokaryotic adaptive immune system / S. van Houte [et al.] // Nature. – 2016. – Vol. 532 (7599). – P. 385–388.
18. Programmable RNA recognition and cleavage by CRISPR/Cas9 / M. R. O’Connell [et al.] // Nature. – 2014. – Vol. 516 (7530). – P. 263–266.
19. Makarova, K. S. Annotation and classification of CRISPR-Cas systems / K. S. Makarova, E. V. Koonin // Methods in Mol. Biol. – 2015. – Vol. 1311. – P. 47–75.
20. An updated evolutionary classification of CRISPR-Cas systems / K. S. Makarova [et al.] // Nature Reviews: Microbiology. – 2015. – Vol. 13, N 11. – P. 722–736.
21. Multiple mechanisms for CRISPR-Cas inhibition by anti-CRISPR proteins / J. Bondy-Denomy [et al.] // Nature. – 2015. – Vol. 526 (7571). – P. 136–139.
22. Hilton, I. B. Genetic engineering: Chemical control for CRISPR editing / I. B. Hilton, C. A. Gersbach // Nature Chem. Biol. – 2017. – Vol. 13. – P. 2–3.
23. Sashital, D. G. Mechanism of foreign DNA selection in a bacterial adaptive immune system / D. G. Sashital, B. Wiedenheft, J. A. Doudna // Cell. – 2012. – Vol. 46. – P. 606–615.
24. Sangal, V. Novel configurations of type I and II CRISPR-Cas systems in *Corynebacterium diphtheriae* / V. Sangal, P. C. Fineran, P. A. Hoskisson // Microbiology. – 2013. – Vol. 159. – P. 2118–2126.
25. Classification and evolution of type II CRISPR-Cas systems / K. Chylinski [et al.] // Nucl. Acids Res. – 2014. – Vol. 42, N 10. – P. 6091–6105.
26. Phylogeny of Cas9 determines functional exchangeability of dual-RNA and Cas9 among orthologous type II CRISPR-Cas systems / I. Fonfara [et al.] // Nucl. Acids Res. – 2014. – Vol. 42, N 4. – P. 2577–2590.
27. Васильева, Е. А. Применение системы направленного геномного редактирования CRISPR/Cas к плюрипотентным стволовым клеткам / Е. А. Васильева, Д. Мелино, Н. А. Барлев // Цитология. – 2015. – Т. 57, № 1. – С. 19–30.
28. Efficient genome engineering in human pluripotent stem cells using Cas9 from *Neisseria meningitidis* / Z. Hou [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2013. – Vol. 110. – P. 15644–15649.
29. Merrett, S. Site-specific genome engineering in human pluripotent stem cells / S. Merrett, U. Martin // Intern. J. of Mol. Sci. – 2016. – Vol. 17 (1000). – P. 1–11.

30. Samson, J. E. The CRISPR-Cas immune system and genetic transfers: reaching an equilibrium / J. E. Samson, A. H. Magadan, S. Moineau // *Microbiol. Spectrum*. – 2015. – Vol. 3, N 1. – P. 209–218.
31. Precision medicine: genetic repair of retinitis pigmentosa in patient-derived stem cells / A. G. Bassuk [et al.] // *Sci. Reports*. – 2016. – Vol. 6.
32. Naïve induced pluripotent stem cells generated from β -thalassemia fibroblasts allow efficient gene correction with CRISPR/Cas9 / Y. Yang [et al.] // *Stem Cells Translational Medicine*. – 2016. – Vol. 5, N 1. – P. 8–19.
33. Goodman, M. A. CRISPR/Cas9 in allergic and immunologic diseases / M. A. Goodman, P. Malik, M. E. Rothenberg // *Expert Rev. of Clin. Immunol.* – 2016. – P. 1–5.
34. The application of CRISPR/Cas9 genome editing technology in cancer research / D. Wang [et al.] // *Yi Chuan*. – 2016. – Vol. 38, N 1. – P. 1–8.
35. Li, Y. The potential application and challenge of powerful CRISPR/Cas9 system in cardiovascular research / Y. Li, Y. H. Song, B. Liu, X. Y. Yu // *Intern. J. of Cardiol.* – 2016. – Vol. 9. – P. 191–193.
36. Modelling kidney disease with CRISPR-mutant kidney organoids derived from human pluripotent epiblast spheroids / B. S. Freedman [et al.] // *Nature Communications*. – 2015. – Vol. 6. – P. 1–13.
37. Genome editing with Cas9 in adult mice corrects a disease mutation and phenotype / H. Yin [et al.] // *Nature Biotechnol.* – 2014. – Vol. 32, N 6. – P. 551–553.
38. Niemann, H. The production of multi-transgenic pigs: update and perspectives for xenotransplantation / H. Niemann, B. Petersen // *Transgenic Res.* – 2016. – P. 1–14.
39. Schiml, S. Revolutionizing plant biology: multiple ways of genome engineering by CRISPR/Cas / S. Schiml, H. Puchta // *Plant Methods*. – 2016. – Vol. 12, N 8. – P. 1–9.
40. Schwartz, M. L. SapTrap, a toolkit for high-throughput CRISPR/Cas9 gene modification in *Caenorhabditis elegans* / M. L. Schwarz, E. M. Jorgensen // *Genetics*. – 2016. – Vol. 202, N 4. – P. 1277–1288.

References

1. Titov L. P. Classification, nomenclature and evolution medically significant bacteria. *Meditsinskii zhurnal* [Medical Journal], 2006, pp. 13–19. (in Russian).
2. Titov L. P., Votyakov V. I., Kozhemiakin A. K., Mosina L. I. Bacterial evolution and its medical value. *Zdravoohranenie* [Health Care], 2002, no. 8, pp. 30–35. (in Russian).
3. Ishino Y., Shinagawa H., Makino K., Amemura M., Nakata A. Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *Journal of Bacteriology*, 1987, vol. 169, no. 12, pp. 5429–5433.
4. Jansen R., Embden J. D., Gaastra W., Schouls L. M. Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes. *Molecular Microbiology*, 2002, vol. 43, no. 6, pp. 1565–1575.
5. Makarova K. S., Grishin N. V., Shabalina S. A., Wolf Y. I., Koonin E. V. A putative RNA-interference-based immune system in prokaryotes: computational analysis of the predicted enzymatic machinery, functional analogies with eukaryotic RNAi, and hypothetical mechanisms of action. *Biology Direct*, 2006, vol. 1, p. 7.
6. Sontheimer E. J., Barrangou R. The Bacterial Origins of the CRISPR Genome-Editing Revolution. *Human Gene Therapy*, 2015, vol. 26, no. 7, pp. 413–424. doi: 10.1089/hum.2015.091.
7. Slaymaker I. M., Gao L., Zetsche B., Scott D. A., Zhang F. Rationally engineered Cas9 nucleases with improved specificity. *Science*, 2016, vol. 351 (6268), pp. 84–88. doi: 10.1126/science.aad5227.
8. Barrangou R. The roles of CRISPR-Cas systems in adaptive immunity and beyond. *Current Opinion in Immunology*, 2015, vol. 32, pp. 36–41. doi: 10.1016/j.coi.2014.12.008.
9. Shashnikova A. V., Gorjaev A. A., Smirnova N. I. Structure and functional role of bacterial CRISPR system. *Problemy osobo opasnykh infektsii* [Problems of Especially Dangerous Infections], 2011, no. 2 (108), pp. 49–52. (in Russian).
10. Peters J. M., Silvis M. R., Zhao D., Hawkins J. S., Gross C. A., Qi L. S. Bacterial CRISPR: accomplishments and prospects. *Current Opinion in Microbiology*, 2015, vol. 27, pp. 121–126.
11. Hale C. R., Zhao P., Olson S., Duff M. O., Graveley B. R., Wells L., Terns R. M., Terns M. P. RNA-guided RNA cleavage by a CRISPR RNA-Cas protein complex. *Cell*, 2009, vol. 139, no. 5, pp. 945–956.
12. Abby S. S., Neron B., Menager H., Touchon M., Rocha E. P. MacSyFinder: a program to mine genomes for molecular systems with an application to CRISPR-Cas systems. *PLOS ONE*, 2014, vol. 9, no. 10, pp. 1–9.
13. Borisenko A. Iu., Dzhioev Iu. P., Paramonov A. I., Bukin Iu. S., Stepanenko L. A., Kolbaseeva O. V., Zlobin I. V. The use of bioinformatics software methods for search CRISPR/Cas systems in genomes of the strains of *Staphylococcus aureus*. *Sibirskii meditsinskii zhurnal (Irkutsk)* [Siberian Medical Journal (Irkutsk)], 2015, vol. 133, no. 2, pp. 71–74. (in Russian).
14. Savitskaya E. E., Musharova O. S., Severinov K. V. Diversity of CRISPR-Cas-mediated mechanisms of adaptive immunity in prokaryotes and their application in biotechnology. *Biochemistry*, 2016, vol. 81, no. 7, pp. 653–661.
15. Lee C., Cradick T., Bao G. The Neisseria meningitidis CRISPR-Cas9 System Enables Specific Genome Editing in Mammalian Cells. *Molecular Therapy*, 2016, vol. 24, no. 3, pp. 645–654.
16. Barrangou R. Diversity of CRISPR-Cas immune systems and molecular machines. *Genome Biology*, 2015, vol. 16, pp. 247–257.
17. Van Houte S., Ekroth A. K., Broniewski, Chabas H., Ashby B., Bondy-Denomy J., Gandon S., Boots M., Paterson S., Buckling A., Westra E. R. The diversity-generating benefits of a prokaryotic adaptive immune system. *Nature*, 2016, vol. 532 (7599), pp. 385–388. doi: 10.1038/nature17436.
18. O'Connell M. R., Oakes B. L., Sternberg S. H., East-Seletsky A., Kaplan M., Doudna J. A. Programmable RNA recognition and cleavage by CRISPR/Cas9. *Nature*, 2014, vol. 516, no. 7530, pp. 263–266.
19. Makarova K. S., Koonin E. V. Annotation and Classification of CRISPR-Cas Systems. *Methods in Molecular Biology*, 2015, vol. 1311, pp. 47–75.

20. Makarova K. S., Wolf Y. I., Alkhnbashi O. S., Costa F., Shah S. A., Saunders S. J., Barrangou R., Brouns S. J., Charpentier E., Haft D. H., Horvath P., Moineau S., Mojica F. J., Terns R. M., Terns M. P., White M. F., Yakunin A. F., Garrett R. A., van der Oost J., Backofen R., Koonin E. V. An updated evolutionary classification of CRISPR-Cas systems. *Nature Reviews: Microbiology*, 2015, vol. 13, no. 11, pp. 722–736.
21. Bondy-Denomy J., Garcia B., Strum S., Du M., Rollins M. F., Hidalgo-Reyes Y., Wiedenheft B., Maxwell K. L., Davidson A. R. Multiple mechanisms for CRISPR-Cas inhibition by anti-CRISPR proteins. *Nature*, 2015, vol. 526 (7571), pp. 136–139.
22. Hilton I. B., Gersbach C. A. Genetic engineering: Chemical control for CRISPR editing. *Nature Chemical Biology*, 2017, vol. 13, pp. 2–3.
23. Sashital D. G., Wiedenheft B., Doudna J. A. Mechanism of foreign DNA selection in a bacterial adaptive immune system. *Cell*, 2012, vol. 46, pp. 606–615.
24. Sangal V., Fineran P. C., Hoskisson P. A. Novel configurations of type I and II CRISPR-Cas systems in *Corynebacterium diphtheriae*. *Microbiology*, 2013, no. 159, pp. 2118–2126.
25. Chylinski K., Makarova K. S., Charpentier E., Koonin E. V. Classification and evolution of type II CRISPR-Cas systems. *Nucleic Acids Research*, 2014, vol. 42, no. 10, pp. 6091–6105.
26. Fonfara I., Le Rhun A., Chylinski K., Makarova K. S., Lřcrivain A. L., Bzdrenga J., Koonin E. V., Charpentier E. Phylogeny of Cas9 determines functional exchangeability of dual-RNA and Cas9 among orthologous type II CRISPR-Cas systems. *Nucleic Acids Research*, 2014, vol. 42, no. 4, pp. 2577–2590.
27. Vasil'eva E. A., Melino D., Barlev N. A. CRISPR/Cas system for genome editing in pluripotent stem cells. *Tsitologiya [Cytology]*, 2015, vol. 57, no. 1, pp. 19–30. (in Russian).
28. Hou Z., Zhang Y., Propson N. E., Howden S. E., Chu L. F., Sontheimer E. J., Sontheimer B., Thomson J. A. Efficient genome engineering in human pluripotent stem cells using Cas9 from *Neisseria meningitidis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, no. 110, pp. 15644–15649.
29. Merkt S., Martin U. Site-specific genome engineering in human pluripotent stem cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, vol. 17 (1000), pp. 1–11.
30. Samson J. E., Magadan A. H., Moineau S. The CRISPR-Cas immune system and genetic transfers: reaching an equilibrium. *Microbiology Spectrum*, 2015, vol. 3, no. 1, pp. 209–218.
31. Bassuk A. G., Zheng A., Li Y., Tsang S. H., Mahajan V. B. Precision medicine: genetic repair of retinitis pigmentosa in patient-derived stem cells. *Scientific Reports*, 2016, vol. 6, p. 19969. doi:10.1038/srep19969.
32. Yang Y., Zhang X., Yi L., Hou Z., Chen J., Kou X., Zhao Y., Wang H., Sun X. F., Jiang C., Wang Y., Gao S. Naïve induced pluripotent stem cells generated from β -thalassaemia fibroblasts allow efficient gene correction with CRISPR/Cas9. *Stem Cells Translational Medicine*, 2016, vol. 5, no. 1, pp. 8–19.
33. Goodman M. A., Malik P., Rothenberg M. E. CRISPR/Cas9 in allergic and immunologic diseases. *Expert Review of Clinical Immunology*, 2016, pp. 1–5.
34. Wang D., Ma Ning, Hui Yang, Gao Xu. The application of CRISPR/Cas9 genome editing technology in cancer research. *Yi Chuan*, 2016, vol. 38, no. 1, pp. 1–8. doi: 10.16288/j. ycz.15–252.
35. Li Y., Song Y. H., Liu B., Yu X. Y. The potential application and challenge of powerful CRISPR/Cas9 system in cardiovascular research. *International Journal of Cardiology*, 2016, vol. 9, pp. 191–193.
36. Freedman B. S., Brooks C. R., Lam A. Q., Fu H., Morizane R., Agrawal V., Saad A. F., Li M. K., Hughes M. R., Werff R. V., Peters D. T., Lu J., Baccei A., Siedlecki A. M., Valerius M. T., Musunuru K., McNagny K. M., Steinman T., Zhou J., Lerou P. H., Bonventre J. V. Modelling kidney disease with CRISPR-mutant kidney organoids derived from human pluripotent epiblast spheroids. *Nature Communications*, 2015, vol. 6, pp. 1–13. doi: 10.1038/ncomms9715.
37. Yin H., Xue W., Chen S., Bogorad R. L., Benedetti E., Grompe M., Kotliansky V., Sharp P. A., Jacks T., Anderson D. G. Genome editing with Cas9 in adult mice corrects a disease mutation and phenotype. *Nature Biotechnology*, 2014, vol. 32, no. 6, pp. 551–553. doi: 10.1038/nbt.2884.
38. Niemann H., Petersen B. The production of multi-transgenic pigs: update and perspectives for xenotransplantation. *Transgenic Research*, 2016, pp. 1–14.
39. Schiml S., Puchta H. Revolutionizing plant biology: multiple ways of genome engineering by CRISPR/Cas. *Plant Methods*, 2016, vol. 12, no. 8, pp. 1–9.
40. Schwartz M. L., Jorgensen E. M. SapTrap, a toolkit for high-throughput CRISPR/Cas9 gene modification in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 2016, vol. 202, no. 4, pp. 1277–1288. doi: 10.1534/genetics.115.184275.

Информация об авторах

Хархаль Анна Николаевна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: anna-madlen69@yandex.ru.

Титов Леонид Петрович – член-корреспондент, иностранный член РАМН, д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: leonidtitov@tut.by.

Information about the authors

Anna N. Kharkhal – Junior researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anna-madlen69@yandex.ru.

Leonid P. Titov – Corresponding Member, Foreign Member of the RAMS, D. Sc. (Med.), Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: leonidtitov@tut.by.