

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2018. Том 15. № 3

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2018. Том 15. № 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.

Главный редактор:

Александр Васильевич Сукало –
Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

Редакционная коллегия:

Н. С. Сердюченко (*заместитель главного редактора*) – Отделение медицинских наук Национальной академии наук Беларуси, 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

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, Гродно, 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

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

Адрес редакции:

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

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ.

Серия медицинских наук. 2018. Том 15, № 3

Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *В. Г. Колосовская*
Компьютерная верстка *М. Э. Маляревич*

Подписано в печать 10.08.2018. Выход в свет 29.08.2018. Формат 60×84 1/8. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 50 экз. Заказ 154.
Цена номера: индивидуальная подписка – 10,66 руб., ведомственная подписка – 25,67 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, 2018

PROCEEDINGS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MEDICAL SERIES. 2018. Vol. 15. no. 3

The Journal was founded in 2004

Issued four times a year

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

Editor-in-Chief:

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

Editorial Board:

Nikolai S. Serdyuchenko (*Associate Editor-in-Chief*) – Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Valentina G. Kolosovskaya (*Managing Editor*)

Olga V. Aleinikova – Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

Mikhail A. Herasimenka – Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus

Sergei L. Kabak – Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

Natalia P. Mitkovskaya – Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

Aleksandr G. Mrochek – Republican Scientific and Practical Center “Cardiology”, Minsk, Belarus

Dmitry L. Pinevich – First Deputy Minister of Health of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

Oleg O. Rummo – 9th City Clinical Hospital of Minsk, Minsk, Belarus

Arnold F. Smeyanovich – Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Belarus

Aleksandr N. Stozharov – Institute for Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Leonid P. Titov – Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus

Frantisek 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, Grodno, 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

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)

*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.
Website: vestimed.belnauka.by.*

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS.
Medical series. 2018. Vol. 15, no. 3.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *V. G. Kolosovskaya*
Computer imposition *M. E. Maliarevich*

It is sent of the press 10.08.2018. Appearance 29.08.2018. Format 60×84 ¹/₈. Offset paper. The press digital.
Printed pages 14,88. Publisher's signatures 16,4. Circulation 50 copies. Order 154.
Number price: individual subscription – 10,66 byn., departmental subscription – 25,67 byn.

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

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka",
Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series, 2018

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

| | |
|---|-----|
| Смаль М. П., Никитченко Н. В., Ролевич А. И., Набебина Т. И., Красный С. А., Гончарова Р. И. Оценка прогностического значения метилирования генов <i>CDKN2A</i> и <i>TIMP3</i> при раке мочевого пузыря..... | 263 |
| Даниленко О. А., Макаревич Е. Р., Сердюченко Н. С., Леонард С. В. Тактика лечения нестабильности сухожилия длинной головки двуглавой мышцы плеча | 276 |
| Булгак А. Г., Тарасик Е. С. Вариабельность сердечного ритма у пациентов с синдромом обструктивного апноэ сна, первичным храпом и ишемической болезнью сердца | 286 |
| Белкина И. О., Карпенко Н. А., Коренева Е. М., Смоленко Н. П., Чистякова Э. Е., Клочков В. К. Коррекция расстройств репродуктивной функции самцов крыс с помощью наночастиц ортованадата гадолиния | 293 |
| Борисевич М. В. Первая линия лечения хронического миелоидного лейкоза у детей и подростков в Республике Беларусь | 306 |
| Суслов Л. Н., Суконко О. Г., Мириленко Л. В. Группы риска развития острой почечной недостаточности у пациентов после хирургического лечения опухолей единственной почки | 315 |
| Стёганцева М. В., Шинкевич В. А., Вашкевич Е. П., Михалевская Т. М., Мелешко А. Н. Полиэтиленмин усиливает иммуногенность ДНК-вакцины на основе гена тирозингидроксилазы в мышинной модели нейробластомы..... | 323 |
| Молчанова А. Ю., Жаворонок И. П., Пехтерева Е. И., Антипова О. А., Мелик-Касумов Т. Б., Павлють Т. О., Василькевич А. И., Кисель М. А. Антиоцицептивный эффект системного введения пальмитоилэтаноламида, стеароилэтаноламида и диклофенака натрия у крыс с экспериментальным нейрогенным болевым синдромом..... | 331 |
| Гончарук Н. П., Гурженко Е. Ю. Анализ абдоминальных родоразрешений по показаниям со стороны матери | 339 |
| Кузнецова Т. Е., Рыжковская Е. Л., Калиновская Е. И. Структурные изменения в микроциркуляторном русле поджелудочной железы крыс с экспериментальным метаболическим синдромом | 347 |
| Янушко В. А. Одномоментная хирургическая коррекция при сочетанном поражении сонных и коронарных артерий | 354 |

АГЛЯДЫ

| | |
|---|-----|
| Титов Л. П. Моноциты, макрофаги, дендритные и миелоидные супрессорные клетки: генез, классификация, иммунобиологические свойства | 363 |
|---|-----|

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

| | |
|--|-----|
| Памяти члена-корреспондента Иосифа Викторовича Залуцкого | 383 |
|--|-----|

CONTENTS**CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE**

| | |
|---|-----|
| Smal M. P., Nikitchenko N. V., Rolevich A. I., Nabebina T. I., Krasny S. A., Goncharova R. I. Assessment of a prognostic value of <i>CDKN2A</i> and <i>TIMP3</i> gene methylation in bladder cancer..... | 263 |
| Danilenko O. A., Makarevich E. R., Serdiuchenko N. S., Leonard S. V. Tactics of treatment of the instability of the tendon of the long head of the biceps brachii | 276 |
| Bulgak A., Tarasik E. S. Heart rate variability in patients with obstructive sleep apnea syndrome, primary snoring and ischemic heart disease | 286 |
| Belkina I. O., Karpenko N. A., Koreneva E. M., Smolenco N. P., Chistyakova E. E., Klochkov V. K. Correction of disorders of the reproductive function of male rats using gadolinium orthovanadate nanoparticles..... | 293 |
| Borisevich M. V. First line of treatment of chronic myeloid leukemia in children and adolescents in the Republic of Belarus..... | 306 |
| Suslov L. N., Sukonko O. G., Mirilenko L. V. Risk groups of acute kidney injury in patients after operative therapy of tumors of a solitary kidney | 315 |
| Stegantseva M. V., Shinkevich V. A., Vashkevich K. P., Mikhaleuskaya T. M., Meleshko A. N. Polyethylenimine increases the immunogenicity of DNA-vaccine based on the tyrosine hydroxylase gene in the mouse model of neuroblastoma..... | 323 |
| Molchanova A. Iu., Zhavoronok I. P., Pekhtereva E. I., Antipova O. A., Melik-Kasumov T. B., Pavlyut' T. O., Vasil'kevich A. I., Kisel' M. A. Antinociceptive effect of a systemic administration of palmitoylethanolamide, stearoylethanolamide and dyclofenac in rats with experimental neurogenic pain syndrome..... | 331 |
| Goncharuk N. P., Gurzhenko O. Iu. Analysis of abdominal delivery according to the mother's reasons..... | 339 |
| Kuznetsova T. E., Ryzhkovskaya E. L., Kalinovskaya E. I. Structural changes in the microcirculatory bed of the pancreas in rats with experimental metabolic syndrome | 347 |
| Yanushko V. A. One-stage surgical correction in case of combined lesions of the carotid and coronary arteries.... | 354 |

SURVEYS

| | |
|---|-----|
| Titov L. P. Monocytes, macrophages, dendritic and myeloid suppressor cells: genesis, classification, immunobiological properties | 363 |
|---|-----|

SCIENTISTS OF BELARUS

| | |
|---|-----|
| In memory of Corresponding Member Iosif Viktorovich Zalutskii | 383 |
|---|-----|

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК [575.224+575.23]:616.62-006
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-263-275>

Поступила в редакцию 10.05.2018
Received 10.05.2018

М. П. Смаль¹, Н. В. Никитченко¹, А. И. Ролевич², Т. И. Набебина²,
С. А. Красный², Р. И. Гончарова¹

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии
им. Н. Н. Александрова, агр. Лесной, Республика Беларусь

ОЦЕНКА ПРОГНОСТИЧЕСКОГО ЗНАЧЕНИЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ *CDKN2A* И *TIMP3* ПРИ РАКЕ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Аннотация. Одним из механизмов нарушения эпигенетической регуляции экспрессии генов является гиперметилирование промоторных областей генов-онкосупрессоров, которое часто наблюдается в злокачественных новообразованиях различной локализации. Профиль мутационных и эпигенетических изменений характеризует злокачественный потенциал опухоли, а также ее способность к инвазии и метастазированию.

Цель исследования состояла в определении прогностической роли статуса метилирования генов *p16*, *p14ARF* и *TIMP3* при раке мочевого пузыря на примере выборки из 158 пациентов. Эпигенетические изменения исследованных генов наблюдались с частотой 11,4; 0 и 10,8 % соответственно и не зависели от клинико-морфологических характеристик.

Установлена статистически значимая ассоциация аномального метилирования генов *p16* и *TIMP3* с курением, что указывает на возможное влияние канцерогенов табачного дыма на возникновение данных эпигенетических изменений. Многофакторный регрессионный анализ пропорциональных рисков Кокса показал независимую прогностическую значимость гиперметилирования промоторной области гена *p16* в отношении прогрессирования рака мочевого пузыря без мышечной инвазии (отношение рисков 6,84; 95 % ДИ 1,6–29,9; $p = 0,011$).

Применение полученных данных об эпигенетической изменчивости *p16* позволит повысить точность прогноза клинического течения рака мочевого пузыря и подобрать адекватную тактику лечения.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, эпигенетические изменения, метилирование, *CDKN2A* (*p16*, *p14ARF*), *TIMP3*, прогностическое значение

Для цитирования: Оценка прогностического значения метилирования генов *CDKN2A* и *TIMP3* при раке мочевого пузыря / М. П. Смаль [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 263–275. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-263-275>

M. P. Smal¹, N. V. Nikitchenko¹, A. I. Rolevich², T. I. Nabebina², S. A. Krasny², R. I. Goncharova¹

¹Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²N. N. Alexandrov National Cancer Centre, Lesnoy, Republic of Belarus

ASSESSMENT OF A PROGNOSTIC VALUE OF *CDKN2A* AND *TIMP3* GENE METHYLATION IN BLADDER CANCER

Abstract. Promoter hypermethylation of tumor suppressor genes is one of the mechanisms of epigenetic regulation disturbance of gene expression and is often observed in different cancer types. The profile of mutational and epigenetic changes characterizes a malignant potential of a tumor, as well as its ability to invade and metastasize.

The aim of the study was to determine a prognostic value of *p16*, *p14ARF* and *TIMP3* gene methylation in the group of 158 bladder cancer patients. Epigenetic changes in these genes were observed with a frequency of 11.4, 0 and 10.8 %, respectively, and did not depend on clinic-morphological characteristics.

A statistically significant association of *p16* and *TIMP3* abnormal methylation with smoking was found, indicating a possible influence of tobacco smoke carcinogens on the occurrence of these epigenetic changes. In the multivariate Cox regression analysis, *p16* promoter hypermethylation was an independent predictor for bladder cancer progression (HR 6.84; 95 % CI 1.6–29.9; $p = 0.011$).

The use of the data on the *p16* methylation status may improve the accuracy of prognosis of the bladder cancer clinical course and the selection of appropriate treatment strategy.

Keywords: bladder cancer, epigenetic changes, methylation, *CDKN2A* (*p16*, *p14ARF*), *TIMP3*, prognostic value

For citation: Smal M. P., Nikitchenko N. V., Rolevich A. I., Nabebina T. I., Krasny S. A., Goncharova R. I. Assessment of a prognostic value of *CDKN2A* and *TIMP3* gene methylation in bladder cancer. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 263–275 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-263-275>

Введение. В структуре всех онкологических заболеваний населения Республики Беларусь рак мочевого пузыря (РМП) составляет 2,7 % [1], причем отмечается тенденция к постоянному росту заболеваемости. В период с 2004 по 2013 г. наблюдалось увеличение частоты выявления новых случаев РМП с 11,4 до 12,7 на 100 000 жителей [1]. Опухоли мочевого пузыря чрезвычайно гетерогенны: обладают различным потенциалом к мышечной инвазии, рецидивированию, прогрессированию и метастазированию. Нередки случаи, когда результаты лечения пациентов, имеющих опухоли одной классификационной категории, существенно различаются. При этом наиболее сложной в плане выбора терапевтического подхода является группа немышечно-инвазивных опухолей, вероятность рецидивирования и прогрессирования которых может варьироваться от 15 до 70 % и от 7 до 40 % соответственно [2]. Недостаточно высокая объективность и воспроизводимость применяемых в настоящее время патогистологических критериев для определения риска развития тех или иных отдаленных результатов лечения обуславливает поиск дополнительных факторов прогноза.

Наиболее перспективными прогностическими маркерами являются молекулярные изменения протоонкогенов и генов-супрессоров опухолей, лежащие в основе процесса злокачественной трансформации клетки. Инактивация генов-онкосупрессоров происходит за счет точковых мутаций, аллельных делеций, хромосомных нарушений и эпигенетических изменений, приводящих к потере функции соответствующих белков.

Практически во всех злокачественных новообразованиях наблюдается нарушение эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов, наиболее изученным из которых является метилирование ДНК [3, 4]. Опухолевые клетки мочевого пузыря, подобно другим типам рака, характеризуются глобальным гипометилированием и сайт-специфическим гиперметилированием CpG-островков в регуляторных областях генов, задействованных в поддержании клеточного гомеостаза [5]. Гиперметилирование ДНК приводит к транскрипционному сайленсингу генов-онкосупрессоров и часто ассоциировано с агрессивным клиническим течением заболевания [6, 7]. Так, по результатам некоторых исследований сообщалось о связи инактивации генов *CDKN2A* и *TIMP3* посредством метилирования их промоторных областей с неблагоприятным прогнозом при РМП [8–10].

Ген *CDKN2A* кодирует два транскрипта – *p16* и *p14ARF*, белковые продукты которых участвуют в регуляции клеточного цикла и апоптоза за счет модуляции активности Rb- и p53-путей [11]. Белок p16, препятствуя образованию комплексов CDK4/cyclin D1, удерживает тем самым Rb в дефосфорилированном состоянии, что не позволяет клетке вступить в S-фазу [12]. Белок p14ARF стабилизирует p53, нарушая его взаимодействие с убиквитинлигазой MDM2 [13]. Тканевый ингибитор металлопротеиназ 3 (*TIMP3*) является одним из членов семейства белков, которые контролируют активность матриксных металлопротеиназ (ММП) и поэтому рассматриваются в качестве потенциальных супрессоров ангиогенеза, опухолевой инвазии и метастазирования [14].

Эпигенетические изменения *p16*, *p14ARF* и *TIMP3* обнаружены в злокачественных новообразованиях различной локализации [15–20]. В отношении РМП данные о частоте и связи аномального метилирования этих генов с определенным опухолевым фенотипом достаточно противоречивы, а его прогностическое значение остается спорным.

Цель настоящего исследования – определение роли эпигенетических изменений *p16*, *p14ARF* и *TIMP3* в развитии и прогрессировании рака мочевого пузыря.

Материалы и методы исследования. В группу исследования были включены 158 пациентов (124 мужчины и 34 женщины) в возрасте от 38 до 88 лет (среднее значение – $66,5 \pm 10,4$ года;

медиана – 68 лет) с гистологически подтвержденным диагнозом РМП, проходивших лечение в РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова в период с 2010 по 2014 г. Все случаи РМП классифицированы по системе TNM (2002). Степень дифференцировки опухолевой ткани определяли гистологически в соответствии с классификациями ВОЗ 1973 и 2004 гг. Клинико-анамнестические данные пациентов представлены в табл. 1.

Таблица 1. Клинико-анамнестические характеристики пациентов
Table 1. Clinical and demographic characteristics of patients

| Характеристика | Класс | Общее к-во пациентов | Частота, % |
|-------------------------------------|-----------------------|----------------------|------------|
| Пол | Мужской | 124 | 78,5 |
| | Женский | 34 | 21,5 |
| Возраст, лет | До 60 | 40 | 25,3 |
| | 61–70 | 46 | 29,1 |
| | 71 и более | 72 | 45,6 |
| Категория T | Ta | 17 | 10,8 |
| | T1 | 86 | 54,4 |
| | T ≥ 2 | 55 | 34,8 |
| Наличие метастазов | Да | 14 | 8,9 |
| | Нет | 144 | 91,1 |
| Размер опухоли, см | До 3 | 69 | 43,7 |
| | 3 и более | 89 | 56,3 |
| Степень дифференцировки (ВОЗ, 1973) | G1 | 54 | 34,2 |
| | G2 | 70 | 44,3 |
| | G3 | 33 | 20,9 |
| | Нет данных | 1 | 0,6 |
| Степень дифференцировки (ВОЗ, 2004) | PUNLMP/Low grade | 88 | 55,7 |
| | High grade | 70 | 44,3 |
| Мультифокальность опухоли | Одиночная опухоль | 55 | 34,8 |
| | Множественная опухоль | 103 | 65,2 |
| Макроскопический вид опухоли | Папиллярная | 115 | 72,8 |
| | Солидная/смешанная | 43 | 27,2 |
| Статус курения | Не курит | 46 | 29,1 |
| | Курил ранее | 47 | 29,7 |
| | Курит | 58 | 36,7 |
| | Нет данных | 7 | 4,4 |

Примечание. PUNLMP (рус. ПУОНЗП) – папиллярная уротелиальная опухоль с низким злокачественным потенциалом.

Рецидивирование и прогрессирование заболевания учитывали только для группы пациентов с РМП без мышечной инвазии (РМП БМИ). За местный рецидив принимали повторное появление морфологически верифицированной переходноклеточной карциномы в стадии Ta, T1 или Tis, локализующейся в мочевом пузыре. Прогрессирование опухолевого процесса устанавливали в случае развития мышечно-инвазивной опухоли и/или регионарных либо отдаленных метастазов у пациентов, ранее получавших лечение по поводу РМП БМИ. Под скорректированной (онкоспецифической) выживаемостью понимали время от момента постановки диагноза до смерти от РМП.

Выделение геномной ДНК проводили из свежего опухолевого материала посредством ферментативной обработки образцов протеиназой K, фенол-хлороформной экстракции и преципитации в этаноле.

Для бисульфитной модификации ДНК использовали набор EZ DNA Methylation-Gold Kit (Zymo Research, США) в соответствии с рекомендациями производителя. Статус метилирования промоторной области генов *p16*, *p14ARF* и *TIMP3* определяли с помощью метил-специфической ПЦР с праймерами [21], подобранными к метилированному и неметилированному аллелю (табл. 2). Реакционная смесь общим объемом 15 мкл содержала 100 нг бисульфит-конвертиро-

ванной ДНК, 1×ПЦР буфер, 0,2 мкМ каждого праймера («Праймтех», Беларусь), 0,2 мМ dNTPs и 0,3 единицы активности Tornado Taq полимеразы («Праймтех»). В случае анализа метилирования генов *p16* и *TIMP3* в реакционную смесь дополнительно вносили диметилсульфоксид в конечной концентрации 5 %. После 15-минутной инкубации при 95 °С проводили 40 циклов амплификации (денатурация при 99 °С – 1 с, отжиг при температуре, указанной в табл. 2, – 10 с, элонгация при 72 °С – 10 с). Конечную элонгацию осуществляли в течение 2 мин при 72 °С. В качестве положительного контроля метилирования использовали *in vitro* метилированную ДНК, полученную посредством обработки CpG-метилтрансферазой (Thermo Scientific, США) согласно инструкции производителя.

Т а б л и ц а 2. Последовательности праймеров
Table 2. Primer sequences

| Ген | Аллель | Праймеры | Температура отжига, °С | Размер продукта, п. н. |
|---------------|--------|---|------------------------|------------------------|
| <i>p16</i> | М | F: TTATTAGAGGGTGGGGCGGATCGC R: GACCCCGAACCGCGACCGTAA | 65 | 150 |
| | U | F: TTATTAGAGGGTGGGGTGGATTGT R: CAACCCCAAACCACAACCATAA | 62 | 151 |
| <i>p14ARF</i> | М | F: GTGTAAAGGGCGGCGTAGC R: AAAACCCTCACTCGCGACGA | 66 | 132 |
| | U | F: TTTTGGTGTAAAGGGTGGTGTAGT R: CACAAAACCCTCACTCACAACAA | 63 | 132 |
| <i>TIMP3</i> | М | F: CGTTTCGTATTTTTGTTTTCGGTTTC R: CCGAAAACCCCGCCTCG | 59 | 116 |
| | U | F: TTTTGTTTGTATTTTTGTTTTGTTTT R: CCCCCAAAACCCACCTCA | 62 | 122 |

Пр и м е ч а н и е. М – метилированный аллель, U – неметилированный аллель.

Анализ продуктов метил-специфической ПЦР проводили в 8 %-ном полиакриламидном геле при напряжении 130 В. Результаты электрофореза визуализировали с помощью бромистого этидия.

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакета прикладных программ SPSS Statistics 17.0 (SPSS Inc.). При анализе бинарных признаков статистическую значимость различий между исследуемыми группами определяли с помощью теста χ^2 или двустороннего точного критерия Фишера. Безрецидивную выживаемость, выживаемость до прогрессирования и скорректированную выживаемость оценивали по методу Каплана–Мейера, значимость различий между показателями выживаемости определяли при помощи log-rank теста. Влияние потенциальных факторов риска на отдаленные результаты лечения оценивали с помощью моно- и мультивариантного регрессионного анализа пропорциональных рисков Кокса. В мультивариантный анализ были включены переменные, показавшие наибольшую статистическую значимость ($p < 0,1$) в моновариантном анализе. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Частота эпигенетических изменений генов *p16*, *p14ARF* и *TIMP3* в опухолях мочевого пузыря. Метилирование гена *p14ARF* нами не обнаружено ни в одном из 68 образцов уротелиальных карцином (рис. 1). Ввиду этого анализ всей выборки пациентов на наличие данных эпигенетических нарушений представлялся нецелесообразным.

Аномальное метилирование гена *p16* выявлено в 18 из 158 опухолей мочевого пузыря, что составило 11,4 %. Эпигенетические изменения гена *TIMP3* наблюдались с частотой 10,8 % (в 17 из 158 уротелиальных карцином). Примеры результатов анализа эпигенетических нарушений *p16* и *TIMP3* представлены на рис. 2 и 3 соответственно.

В ряде исследований сообщалось о высокой частоте аномального метилирования промоторных областей генов *p16* и *p14ARF* при различных типах рака, в том числе при лимфоме, раке желудка, печени, пищевода, плоскоклеточной карциноме головы и шеи [15–19]. При РМП, согласно данным разных авторов, частота эпигенетических изменений в локусе *CDKN2A* варьируется

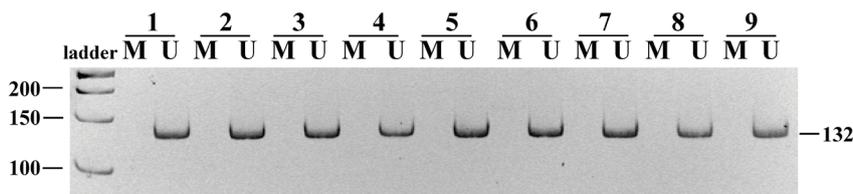


Рис. 1. Анализ метилирования гена *p14ARF* в опухолевой ткани. Цифрами обозначены номера образцов ДНК, выделенной из опухолевого материала. Наличие ПЦР-продукта в лунке М указывает на присутствие метилированного аллеля, в лунке U – неметилированного аллеля

Fig. 1. Analysis of the methylation of the *p14ARF* gene in tumor tissues. The numbers denote the numbers of DNA samples isolated from the tumor material. PCR products in lane M indicate the presence of methylated alleles, whereas PCR products in lane U indicate the presence of unmethylated alleles

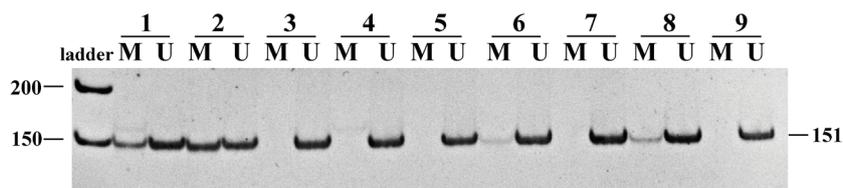


Рис. 2. Анализ метилирования гена *p16* в опухолевой ткани. В образцах 1, 2, 6 и 8 наблюдается метилирование гена *p16*, в образцах 3, 4, 5, 7 и 9 метилирование отсутствует

Fig. 2. Analysis of the methylation of the *p16* gene in tumor tissues. Samples 1, 2, 6 and 8 show the presence of methylation of the *p16* gene; samples 3, 4, 5, 7 and 9 – the absence of methylation

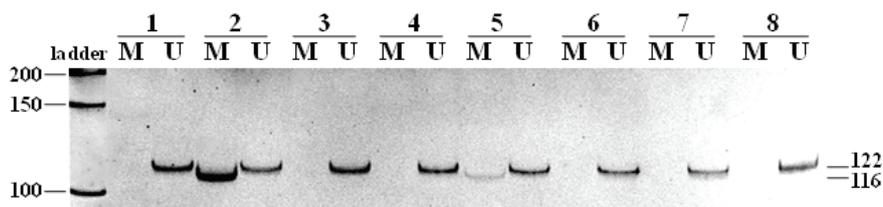


Рис. 3. Анализ метилирования гена *TIMP3* в опухолевой ткани. В образцах 2 и 5 наблюдается метилирование гена *TIMP3*, в образцах 1, 3, 4, 6, 7 и 8 метилирование отсутствует

Fig. 3. Analysis of the methylation of the *TIMP3* gene in tumor tissues. Samples 2 and 5 show the presence of methylation of the *TIMP3* gene; samples 1, 3, 4, 6, 7 and 8 – the absence of methylation

в пределах от 0 до 73 % [22, 23]. Подобно полученным нами результатам, в работах Serizawa с соавт. [22] и Friedrich с соавт. [24] метилирование гена *p14ARF* не выявлено ни в одном случае уротелиальной карциномы. Наиболее близкие к установленным нами значения частоты эпигенетических нарушений гена *p16* определены Friedrich с соавт. [25] и Orlow с соавт. [26]. Отличия полученных нами результатов с данными, приведенными в других работах [8, 23, 27], обусловлены составом включенных в исследование опухолей и применяемыми методами анализа. Кроме того, обнаруженная нами сравнительно невысокая частота (11,4 %) аномального метилирования *CDKN2A* может быть обусловлена тем, что значительная доля уротелиальных карцином несет гомо- и гетерозиготные делеции этого локуса, захватывающие CpG-островки (10–30 и 40–60 % случаев соответственно) [28].

TIMP3 представляет собой секретируемый белок размером 24 кДа, единственный из всего семейства непосредственно связывающийся с внеклеточным матриксом [14]. В исследовании Bachman с соавт. [20] продемонстрирована значимая корреляция между аномальным метилированием и снижением экспрессии *TIMP3* в различных раковых линиях клеток (легких, молочной железы, толстого кишечника), а также *in vivo* в почечно-клеточной карциноме. Полученные нами результаты о частоте эпигенетических изменений гена *TIMP3* согласуются с представленными в работе Garcia-Baquero с соавт. [10] данными, согласно которым исследуемый показатель составляет 11,5 %.

Ассоциация метилирования генов *p16* и *TIMP3* с клинико-морфологическими и демографическими характеристиками. Статистическая обработка данных показала отсутствие достоверной связи эпигенетических нарушений генов *p16* и *TIMP3* с демографическими и клинико-морфологическими параметрами (табл. 3), тем не менее в определенных подгруппах пациентов обнаружены некоторые закономерности в их распределении.

Т а б л и ц а 3. Метилирование генов *p16* и *TIMP3* в зависимости от демографических и патоморфологических характеристик
T a b l e 3. Methylation of the *p16* and *TIMP3* genes depending on demographic and pathomorphological characteristics

| Характеристика | Класс | К-во событий/общее число пациентов | | | |
|-------------------------------------|--------------------|-------------------------------------|----------|---------------------------------------|----------|
| | | Метилирование <i>p16</i> , n (%) | <i>p</i> | Метилирование <i>TIMP3</i> , n (%) | <i>p</i> |
| Пол | Мужской | 17/124 (13,7) | 0,12 | 15/124 (12,1) | 0,53 |
| | Женский | 1/34 (2,9) | | 2/34 (5,9) | |
| Возраст, лет | До 60 | 5/36 (13,9) | 0,56 | 6/36 (16,7) | 0,22 |
| | 60 и более | 13/122 (10,7) | | 11/122 (9,0) | |
| Опухоль | Первичная | 15/125 (12,0) | 0,77 | 14/125 (11,2) | 1,0 |
| | Рецидивная | 3/33 (9,1) | | 3/33 (9,1) | |
| Категория T | Ta | 1/17 (5,9) | 0,88 | 0/17 (0) | 0,36 |
| | T1 | 10/86 (11,6) | | 10/86 (11,6) | |
| | T ≥ 2 | 7/55 (12,7) | | 7/55 (12,7) | |
| Наличие метастазов | Да | 1/14 (7,1) | 1,0 | 1/14 (7,1) | 1,0 |
| | Нет | 17/144 (11,8) | | 16/144 (11,1) | |
| Размер опухоли, см | До 3 | 8/69 (11,6) | 1,0 | 5/69 (7,2) | 0,3 |
| | 3 и более | 10/89 (11,2) | | 12/89 (13,5) | |
| Степень дифференцировки (ВОЗ, 1973) | G1 | 5/54 (9,3) | 0,42 | 4/54 (7,4) | 0,60 |
| | G2 | 7/70 (9,7) | | 9/70 (12,9) | |
| | G3 | 6/33 (17,6) | | 4/33 (12,1) | |
| Степень дифференцировки (ВОЗ, 2004) | PUNLMP/Low grade | 11/88 (12,5) | 0,80 | 6/88 (6,8) | 0,12 |
| | High grade | 7/70 (10,0) | | 11/70 (15,7) | |
| Мультифокальность опухоли | Одиночная | 6/55 (10,9) | 1,0 | 5/55 (9,1) | 0,79 |
| | Множественная | 12/103 (11,7) | | 12/103 (11,7) | |
| Макроскопический вид опухоли | Папиллярная | 13/115 (11,3) | 1,0 | 12/115 (10,4) | 0,78 |
| | Солидная/смешанная | 5/43 (11,6) | | 5/43 (11,6) | |
| Статус курения | Не курит | 2/46 (4,3) | 0,062 | 3/46 (6,5) | 0,27 |
| | Курит/курил ранее | 16/105 (15,2) | | 14/105 (13,3) | |

Гиперметилирование промоторной области гена *p16* при мышечно-инвазивном РМП наблюдалось несколько чаще (12,7 %), чем при РМП без мышечной инвазии (10,7 %) ($p = 0,79$), причем наименьшая частота эпигенетических нарушений, равная 5,9 %, отмечалась в уротелиальных карциномах категории Ta. Полученные нами данные находятся в соответствии с результатами проведенного Qi с соавт. [29] мета-анализа, которые указывают на специфичность метилирования *p16* к опухолевой ткани мочевого пузыря, но в то же время и на отсутствие его достоверной связи с особенностями клинического течения РМП.

Нами выявлена тенденция ($p = 0,062$) к увеличению частоты аномального метилирования *p16* у курящих или куривших ранее пациентов (табл. 3). При этом только у пациентов с неммышечно-инвазивными уротелиальными карциномами наблюдаемая тенденция достигла уровня статистической значимости ($p = 0,014$). Так, у некурящих пациентов аномальное метилирование *p16* не обнаружено ни в одном из 33 случаев, у курящих его частота составила 16,9 % (11 из 65 наблюдений).

Метилирование гена *TIMP3*, как и гена *p16*, чаще регистрировалось в мышечно-инвазивных опухолях (12,7 %), чем в неммышечно-инвазивных (9,7 %) ($p = 0,59$), при категории Ta метилирование *TIMP3* отсутствовало во всех проанализированных образцах. Несмотря на то что в некоторых работах сообщалось о связи эпигенетических изменений *TIMP3* с инвазией и низкой степенью дифференцировки опухоли [10, 23], нам не удалось выявить такой зависимости.

В настоящем исследовании при анализе подгруппы пациентов с РМП БМИ обнаружена статистически значимая ассоциация метилирования *TIMP3* ($p = 0,049$) с более длительным стажем курения: у пациентов, куривших более 20 лет, частота метилирования достигла 16,7 % (8 из 48 случаев), у некурящих или куривших менее 20 лет – 4 % (2 из 50 случаев).

Интересным представляется выявление прямой статистически значимой зависимости между эпигенетическими изменениями генов *p16* и *TIMP3* ($p < 0,001$), что может указывать на существование общих механизмов их возникновения. При отсутствии метилирования *TIMP3* эпигенетические изменения гена *p16* наблюдались в 7,1 % уротелиальных карцином (10 из 141 случая), а при его наличии – в 47,1 % (8 из 17 случаев).

Объединение данных о статусе метилирования генов *TIMP3* и *p16* позволило выявить значимую ассоциацию ($p = 0,047$) исследуемых эпигенетических изменений с курением в подгруппе пациентов с РМП БМИ. В группе курящих или куривших ранее пациентов частота аномального метилирования хотя бы одного из генов составила 23,1 % (15 из 65 случаев), тогда как в группе некурящих этот показатель был равен 6,1 % (2 из 33 случаев).

Известно, что до 50 % всех случаев РМП обусловлены негативным влиянием канцерогенов табачного дыма. Последние, по-видимому, индуцируют изменения профиля метилирования ряда генов-мишеней, что отражается в нарушении регуляции важнейших клеточных процессов и, в конечном счете, приводит к возникновению и/или манифестации онкологических заболеваний. В работе Marsit с соавт. [30] на большой выборке пациентов с РМП показана значимая связь метилирования *CDKN2A* с курением, что согласуется с нашими данными.

Оценка прогностического значения статуса метилирования генов p16 и TIMP3. Полагают, что нарушение профиля эпигенетической изменчивости обуславливает не только инициацию канцерогенеза, но и его прогрессирование. Поэтому следующим этапом работы стала оценка роли метилирования генов *p16* и *TIMP3* в предсказании отдаленных результатов лечения РМП.

Анализ прогностического значения эпигенетических изменений проводили на выборке из 146 пациентов, отдаленные результаты лечения 12 человек не прослежены. Длительность наблюдения колебалась от 32 до 60 мес., медиана наблюдения составила 46 мес. В течение этого периода в группе из 94 пациентов с РМП БМИ выявлено 27 (28,7 %) рецидивов, в 13,8 % случаев (13 из 94) зарегистрировано прогрессирование в мышечно-инвазивную форму. В общей группе пациентов 48 человек умерло, в том числе 24 от РМП.

Как видно из табл. 4, нами не выявлено прогностической ценности эпигенетических изменений исследуемых генов для предсказания рецидивов и онкоспецифической выживаемости пациентов.

В то же время наблюдалось значительное снижение 3-летней выживаемости до прогрессирования при наличии гиперметилирования *p16* по сравнению с его отсутствием: 66,7 % (95 % ДИ 35,9–97,5) и 87,6 % (95 % ДИ 80,3–94,9) соответственно (рис. 4).

В однофакторном регрессионном анализе Кокса влияние эпигенетических изменений *p16* на повышение риска прогрессирования не достигло статистической значимости (отношение рисков (ОР) 3,34; 95 % ДИ 0,9–12,2; $p = 0,067$). Вместе с тем в многофакторной модели с пошаговым исключением независимыми предикторами более низких уровней выживаемости до прогрессирования являлись наличие предшествующих рецидивов (ОР 13,59; 95 % ДИ 3,7–50,0; $p < 0,001$), гиперметилирование *p16* (ОР 6,84; 95 % ДИ 1,6–29,9; $p = 0,011$), возраст старше 70 лет (ОР 4,89; 95 % ДИ 1,4–16,9; $p = 0,012$) и низкая степень дифференцировки опухоли (ОР 5,07; 95 % ДИ 1,4–18,7; $p = 0,015$) (табл. 5).

Результаты большинства исследований свидетельствуют об отсутствии прогностической роли эпигенетических изменений *p16* и *p14ARF* для предсказания отдаленных результатов лечения РМП [31–33]. Тем не менее, в некоторых работах отмечалась связь метилирования этих генов с повышенным риском рецидивов [8], прогрессированием опухоли [9], снижением общей и онкоспецифической выживаемости [14, 27]. Нами установлено независимое от стандартных клинических факторов прогноза влияние эпигенетических нарушений *p16* на риск прогрессирования РМП БМИ, что открывает возможности для их применения в качестве молекулярных маркеров прогноза клинического течения заболевания.

Таблица 4. Анализ прогностического значения аномального метилирования генов *p16* и *TIMP3* в отношении отдаленных результатов леченияTable 4. Analysis of the prognostic value of *p16* and *TIMP3* abnormal methylation with respect to the recurrence-free, progression-free, overall and cancer-specific survival

| Отдаленные результаты лечения | Подгруппа | К-во событий/ общее число пациентов | 3-летняя выживаемость (95 % ДИ), % | <i>p</i> (log-rank) |
|--|---------------------|--|---------------------------------------|---------------------|
| Рецидивирование | <i>p16 unmeth</i> | 24/85 | 75,4 (66,0–84,8) | 0,54 |
| | <i>p16 meth</i> | 3/9 | 66,7 (35,9–97,5) | |
| | <i>TIMP3 unmeth</i> | 26/87 | 73,7 (64,3–83,1) | 0,42 |
| | <i>TIMP3 meth</i> | 1/7 | 85,7 (59,8–100) | |
| Прогрессирование | <i>p16 unmeth</i> | 10/85 | 87,6 (80,3–94,9) | 0,052 |
| | <i>p16 meth</i> | 3/9 | 66,7 (35,9–97,5) | |
| | <i>TIMP3 unmeth</i> | 13/87 | 84,4 (76,6–92,2) | 0,29 |
| | <i>TIMP3 meth</i> | 0/7 | 100 | |
| Общая выживаемость | <i>p16 unmeth</i> | 44/130 | 71,3 (63,5–79,1) | 0,60 |
| | <i>p16 meth</i> | 4/16 | 75,0 (53,8–96,2) | |
| | <i>TIMP3 unmeth</i> | 44/132 | 71,6 (63,8–79,4) | 0,71 |
| | <i>TIMP3 meth</i> | 4/14 | 71,4 (47,7–95,1) | |
| Скорректированная выживаемость | <i>p16 unmeth</i> | 21/130 | 83,4 (76,7–90,1) | 0,79 |
| | <i>p16 meth</i> | 3/16 | 81,3 (62,1–100) | |
| | <i>TIMP3 unmeth</i> | 22/132 | 82,8 (76,1–89,5) | 0,82 |
| | <i>TIMP3 meth</i> | 2/14 | 85,7 (67,3–100) | |
| Скорректированная выживаемость при РМП БМИ | <i>p16 unmeth</i> | 7/82 | 91,9 (85,6–98,2) | 0,78 |
| | <i>p16 meth</i> | 1/9 | 88,9 (68,3–100) | |
| | <i>TIMP3 unmeth</i> | 8/84 | 90,8 (84,3–97,3) | 0,38 |
| | <i>TIMP3 meth</i> | 0/7 | 100 | |
| Скорректированная выживаемость при МИ РМП | <i>p16 unmeth</i> | 14/48 | 67,7 (53,8–81,6) | 0,96 |
| | <i>p16 meth</i> | 2/7 | 71,4 (37,9–100) | |
| | <i>TIMP3 unmeth</i> | 14/48 | 67,7 (53,8–81,6) | 0,96 |
| | <i>TIMP3 meth</i> | 2/7 | 71,4 (37,9–100) | |

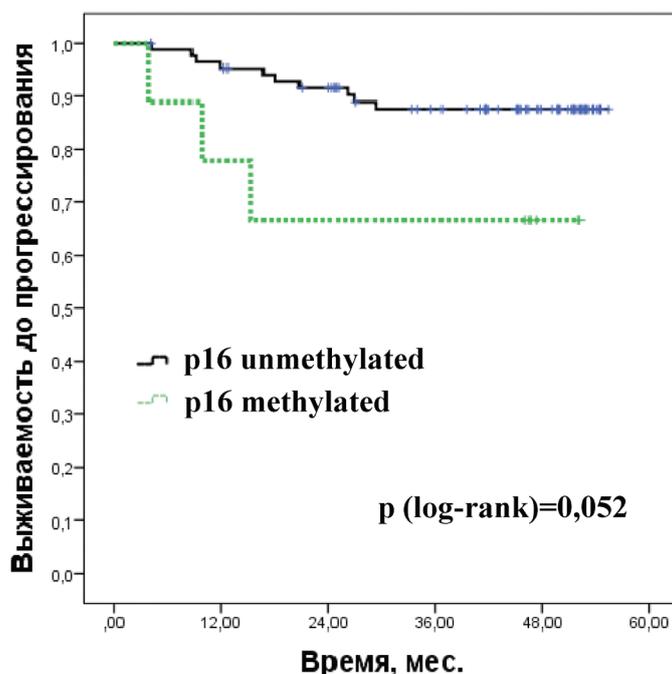
Рис. 4. Выживаемость до прогрессирования в зависимости от статуса метилирования гена *p16*Fig. 4. Progression-free survival depending on the *p16* gene methylation status

Таблица 5. Результаты моно- и многофакторного анализа выживаемости до прогрессирования опухоли
Table 5. Results of the univariate and multivariate survival analysis for prediction of tumor progression

| Показатель | Монофакторный анализ | | Многофакторный анализ | |
|--|----------------------|-----------|-----------------------|-----------|
| | ОР (95 % ДИ) | <i>p</i> | ОР (95 % ДИ) | <i>p</i> |
| Пол (М против Ж) | 2,28 (0,51–10,29) | 0,28 | – | |
| Возраст (≥ 70 против < 70), лет | 2,41 (0,79–7,37) | 0,1 | 4,89 (1,42–16,91) | 0,012 |
| Рецидивная опухоль против первичной | 8,58 (2,64–27,89) | $< 0,001$ | 13,59 (3,69–50,0) | $< 0,001$ |
| Единичная опухоль против мультифокальной | 0,62 (0,17–2,24) | 0,46 | – | |
| Размер (≥ 3 см против < 3 см) | 0,15 (0,02–1,17) | 0,07 | – | |
| T1 против Ta | 1,16 (0,26–5,24) | 0,85 | – | |
| High grade против low grade | 2,5 (0,84–7,43) | 0,1 | 5,07 (1,37–18,74) | 0,015 |
| Метилирование гена <i>p16</i> | 3,34 (0,92–12,15) | 0,067 | 6,84 (1,57–29,86) | 0,011 |
| Метилирование гена <i>TIMP3</i> | 0,04 (0–297,59) | 0,48 | – | |

Относительно прогностической значимости метилирования *TIMP3* результаты многочисленных исследований неоднозначны. В более ранней работе Friedrich с соавт. [25] установлена статистически значимая ассоциация эпигенетических изменений с лучшей безрецидивной выживаемостью. В то же время исследования Garcia-Vaquero с соавт. [10] и Hoque с соавт. [14] показали независимое влияние аномального метилирования *TIMP3* на снижение общей и онкоспецифической выживаемости пациентов. В работах Yates с соавт. и Casadio с соавт. [33, 34], так же как и в наших исследованиях, прогностическое значение эпигенетических изменений этого гена не установлено. Вместе с тем обращает на себя внимание 100 %-ная 3-летняя скорректированная выживаемость и выживаемость до прогрессирования у пациентов с РМП БМИ при наличии метилирования гена *TIMP3*.

Заключение. Таким образом, нами установлена относительно невысокая частота эпигенетических изменений *CDKN2A* и *TIMP3* в опухолевой ткани мочевого пузыря пациентов всех групп независимо от клинико-морфологических параметров. В то время как эпигенетические изменения *p14ARF* не выявлены ни в одном случае, аномальное метилирование генов *p16* и *TIMP3* наблюдалось с частотой 11,4 и 10,8 % соответственно. У пациентов с немышечно-инвазивными карциномами обнаружена статистически значимая связь метилирования генов *p16* и *TIMP3* с курением, что указывает на возможное влияние канцерогенов табачного дыма на возникновение данных эпигенетических нарушений. Анализ прогностического значения эпигенетической изменчивости изученных генов показал, что гиперметилирование *p16* является независимым фактором риска прогрессирования РМП БМИ (ОР 6,84; 95 % ДИ 1,6–29,9; $p = 0,011$).

Ввиду потенциальной обратимости эпигенетические изменения, в отличие от структурных нарушений генов, представляются привлекательными мишенями для противораковой терапии. Восстановление функции гена возможно за счет использования деметилирующих агентов, которые уже сейчас применяются для лечения острой лейкемии и миелодисплазии [35]. Особую актуальность восстановление профиля метилирования приобретает в связи с выявленной в настоящем исследовании статистически значимой связью эпигенетических изменений гена *p16* с прогрессированием РМП БМИ. Применение ингибиторов метилирования будет способствовать реактивации гена-онкосупрессора *p16*, являющегося критичным для нормального функционирования клетки.

Использование данных о статусе метилирования гена *p16* в комплексе с ранее выявленными молекулярными маркерами прогрессирования РМП [36, 37] позволит более точно стратифицировать пациентов на группы риска, определять частоту и степень мониторинга за пациентами, а также оценивать необходимость более агрессивной терапии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (№ договора M16K-017).

Acknowledgements. This work was financially supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (Agreement no. M16K-017).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Океанов, А. Е. Статистика онкологических заболеваний в Республике Беларусь (2004–2013) / А. Е. Океанов, П. И. Моисеев, Л. Ф. Левин. – Минск : Респ. науч.-практ. центр онкологии и мед. радиологии, 2014. – 382 с.
2. Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials / R. J. Sylvester [et al.] // *Eur. Urol.* – 2006. – Vol. 49, N 3. – P. 466–477. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2005.12.031>
3. Esteller, M. Epigenetic gene silencing in cancer: the DNA hypermethylome / M. Esteller // *Human Mol. Genetics.* – 2007. – Vol. 16, N R1. – P. R50–R59. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm018>
4. Jones, P. A. The epigenomics of cancer / P. A. Jones, S. B. Baylin // *Cell.* – 2007. – Vol. 128, N 4. – P. 683–692. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.01.029>
5. Enokida, H. Epigenetics in bladder cancer / H. Enokida, M. Nakagawa // *Intern. J. Clin. Oncol.* – 2008. – Vol. 13, N 4. – P. 298–307. <https://doi.org/10.1007/s10147-008-0811-1>
6. DNA methylation alterations in urothelial carcinoma / A. Neuhausen [et al.] // *Cancer Biol. Ther.* – 2006. – Vol. 5, N 8. – P. 993–1001.
7. Phe, V. Interest of methylated genes as biomarkers in urothelial cell carcinomas of the urinary tract / V. Phé, O. Cussenot, M. Rouprêt // *BJU Intern.* – 2009. – Vol. 104, N 7. – P. 896–901. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2009.08696.x>
8. Prevalence of aberrant methylation of p14ARF over p16INK4a in some human primary tumors / G. Dominguez [et al.] // *Mutation Res./Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis.* – 2003. – Vol. 530, N 1–2. – P. 9–17. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(03\)00133-7](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(03)00133-7)
9. Promoter hypermethylation is associated with tumor location, stage, and subsequent progression in transitional cell carcinoma / J. W. Catto [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2005. – Vol. 23, N 13. – P. 2903–2910. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.03.163>
10. Methylation of tumor suppressor genes in a novel panel predicts clinical outcome in paraffin-embedded bladder tumors / R. García-Baquero [et al.] // *Tumour Biology.* – 2014. – Vol. 35, N 6. – P. 5777–5786. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-1767-6>
11. p16INK4A and p14ARF gene promoter hypermethylation as prognostic biomarker in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma: a review / A. Al-Kaabi [et al.] // *Disease Markers.* – 2014. – Vol. 2014. – Art. 260549. <https://doi.org/10.1155/2014/260549>
12. Kopnin, B. P. Targets of oncogenes and tumor suppressors: key for understanding basic mechanisms of carcinogenesis / B. P. Kopnin // *Biochemistry.* – 2000. – Vol. 65, N 1. – P. 2–27.
13. Mitra, A. P. Molecular pathogenesis and diagnostics of bladder cancer / A. P. Mitra, R. J. Cote // *Annu. Rev. Pathol.: Mech. Dis.* – 2009. – Vol. 4, N 1. – P. 251–285. <https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.4.110807.092230>
14. Tissue inhibitor of metalloproteinases-3 promoter methylation is an independent prognostic factor for bladder cancer / M. O. Hoque [et al.] // *J. Urol.* – 2008. – Vol. 179, N 2. – P. 743–747. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2007.09.019>
15. Prognostic significance of epigenetic inactivation of p16, p15, MGMT and DAPK genes in follicular lymphoma / M. Krajnović [et al.] // *Med. Oncol.* – 2013. – Vol. 30, N 1. – P. 441. <https://doi.org/10.1007/s12032-012-0441-3>
16. Peng, D. The relationship between P16 gene promoter methylation and gastric cancer: a meta-analysis based on Chinese patients / D. Peng, H. Zhang, G. Sun // *J. Cancer Res. Ther.* – 2014. – Vol. 10, N 8, suppl. – P. C292–C295. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.151535>
17. Methylation, a major mechanism of p16/CDKN2 gene inactivation in head and neck squamous carcinoma / A. K. El-Naggar [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 1997. – Vol. 151, N 6. – P. 1767–1774.
18. Promoter methylation of MLH1, PMS2, MSH2 and p16 is a phenomenon of advanced-stage HCCs / I. Hinrichsen [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, N 1. – P. e84453. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084453>
19. Aberrant DNA methylation of P16, MGMT, and hMLH1 genes in combination with MTHFR C677T genetic polymorphism in esophageal squamous cell carcinoma / J. Wang [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prevention.* – 2008. – Vol. 17, N 1. – P. 118–125. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-0733>
20. Methylation-associated silencing of the tissue inhibitor of metalloproteinase-3 gene suggest a suppressor role in kidney, brain, and other human cancers / K. E. Bachman [et al.] // *Cancer Res.* – 1999. – Vol. 59, N 4. – P. 798–802.
21. Aberrant promoter methylation of multiple genes in non-small cell lung cancers / S. Zöchbauer-Müller [et al.] // *Cancer Res.* – 2001. – Vol. 61, N 1. – P. 249–255.
22. Integrated genetic and epigenetic analysis of bladder cancer reveals an additive diagnostic value of FGFR3 mutations and hypermethylation events / R. R. Serizawa [et al.] // *Intern. J. Cancer.* – 2011. – Vol. 129, N 1. – P. 78–87. <https://doi.org/10.1002/ijc.25651>
23. Quantitation of promoter methylation of multiple genes in urine DNA and bladder cancer detection / M. O. Hoque [et al.] // *JNCI: J. Natl. Cancer Inst.* – 2006. – Vol. 98, N 14. – P. 996–1004. <https://doi.org/10.1093/jnci/djj265>
24. Detection of methylated apoptosis-associated genes in urine sediments of bladder cancer patients / M. G. Friedrich [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2004. – Vol. 10, N 22. – P. 7457–7465. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-0930>
25. Prognostic relevance of methylation markers in patients with non-muscle invasive bladder carcinoma / M. G. Friedrich [et al.] // *Eur. J. of Cancer.* – 2005. – Vol. 41, N 17. – P. 2769–2778. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2005.07.019>
26. Deletions of the INK4A gene in superficial bladder tumors. Association with recurrence / I. Orlov [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 1999. – Vol. 155, N 1. – P. 105–113. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65105-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65105-X)
27. p16INK4a and p14ARF methylation as a potential biomarker for human bladder cancer / K. Kawamoto [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – Vol. 339, N 3. – P. 790–796. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.11.072>
28. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma / J. N. Weinstein [et al.] // *Nature.* – 2014. – Vol. 507, N 7492. – P. 315–322. <https://doi.org/10.1038/nature12965>

29. The relationship between promoter methylation of p16 gene and bladder cancer risk: a meta-analysis / D. Qi [et al.] // Intern. J. Clin. Exp. Med. – 2015. – Vol. 8, N 11. – P. 20701–20711.
30. Carcinogen exposure and gene promoter hypermethylation in bladder cancer / C. J. Marsit [et al.] // Carcinogenesis. – 2006. – Vol. 27, N 1. – P. 112–116. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgi172>
31. Molecular classification of non-muscle-invasive bladder cancer (pTa low-grade, pT1 low-grade, and pT1 high-grade subgroups) using methylation of tumor-suppressor genes / R. Sacristan [et al.] // J. Mol. Diagn. – 2014. – Vol. 16, N 5. – P. 564–572. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2014.04.007>
32. Evaluation of the methylation status of tumour suppressor genes for predicting bacillus Calmette-Guérin response in patients with T1G3 high-risk bladder tumours / M. Agundez [et al.] // Eur. Urol. – 2011. – Vol. 60, N 1. – P. 131–140. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2011.04.020>
33. Promoter hypermethylation identifies progression risk in bladder cancer / D. R. Yates [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2007. – Vol. 13, N 7. – P. 2046–2053. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-2476>
34. DNA Methylation profiles as predictors of recurrence in non muscle invasive bladder cancer: an MS-MLPA approach / V. Casadio [et al.] // J. Exp. Clin. Cancer Res. – 2013. – Vol. 32. – P. 94. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-32-94>
35. Worm, J. DNA methylation: an epigenetic pathway to cancer and a promising target for anticancer therapy / J. Worm, P. Guldberg // J. Oral Pathol. Med. – 2002. – Vol. 31, N 8. – P. 443–449. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0714.2002.00034.x>
36. Метилирование гена RUNX3 как фактор прогноза при раке мочевого пузыря без мышечной инвазии / М. П. Смаль [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2015. – Т. 59, № 5. – С. 85–90.
37. Мутации гена TP53 и их прогностическая значимость при раке мочевого пузыря / М. П. Смаль [и др.] // Молекуляр. медицина. – 2015. – № 6. – С. 26–32.

References

1. Okeanov A. E., Moiseev P. I., Levin L. F. *Statistics of cancer diseases in the Republic of Belarus (2004–2013)*. Minsk, Republican Scientific and Practical Center of Oncology and Medical Radiology, 2014. 382 p. (in Russian).
2. Sylvester R. J., van der Meijden A. P., Oosterlinck W., Witjes J. A., Bouffoux C., Denis L., Newling D. W., Kurth K. Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. *European Urology*, 2006, vol. 49, no. 3, pp. 466–477. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2005.12.031>
3. Esteller M. Epigenetic gene silencing in cancer: the DNA hypermethylome. *Human Molecular Genetics*, 2007, vol. 16, no. R1, pp. R50–R59. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm018>
4. Jones P. A., Baylin S. B. The epigenomics of cancer. *Cell*, 2007, vol. 128, no. 4, pp. 683–692. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.01.029>
5. Enokida H., Nakagawa M. Epigenetics in bladder cancer. *International Journal of Clinical Oncology*, 2008, vol. 13, no. 4, pp. 298–307. <https://doi.org/10.1007/s10147-008-0811-1>
6. Neuhausen A., Florl A. R., Grimm M. O., Schulz W. A. DNA methylation alterations in urothelial carcinoma. *Cancer Biology and Therapy*, 2006, vol. 5, no. 8, pp. 993–1001.
7. Phé V., Cussenot O., Rouprêt M. Interest of methylated genes as biomarkers in urothelial cell carcinomas of the urinary tract. *BJU International*, 2009, vol. 104, no. 7, pp. 896–901. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2009.08696.x>
8. Dominguez G., Silva J., Garcia J. M., Silva J. M., Rodriguez R., Muñoz C., Chacón I., Sanchez R., Carballido J., Colás A., España P., Bonilla F. Prevalence of aberrant methylation of p14ARF over p16INK4a in some human primary tumors. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2003, vol. 530, no. 1–2, pp. 9–17. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(03\)00133-7](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(03)00133-7)
9. Catto J. W., Azzouzi A. R., Rehman I., Feeley K. M., Cross S. S., Amira N., Fromont G., Sibony M., Cussenot O., Meuth M., Hamdy F. C. Promoter hypermethylation is associated with tumor location, stage, and subsequent progression in transitional cell carcinoma. *Journal of Clinical Oncology*, 2005, vol. 23, no. 13, pp. 2903–2910. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.03.163>
10. García-Baquero R., Puerta P., Beltran M., Alvarez-Mújica M., Alvarez-Ossorio J. L., Sánchez-Carbayo M. Methylation of tumor suppressor genes in a novel panel predicts clinical outcome in paraffin-embedded bladder tumors. *Tumor Biology*, 2014, vol. 35, no. 6, pp. 5777–5786. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-1767-6>
11. Al-Kaabi A., van Bockel L. W., Pothén A. J., Willems S. M. *p16INK4A and p14ARF* gene promoter hypermethylation as prognostic biomarker in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma: a review. *Disease Markers*, 2014, vol. 2014, art. 260549. <https://doi.org/10.1155/2014/260549>
12. Kopnin B. P. Targets of oncogenes and tumor suppressors: key for understanding basic mechanisms of carcinogenesis. *Biochemistry*, 2000, vol. 65, no. 1, pp. 2–27.
13. Mitra A. P., Cote R. J. Molecular pathogenesis and diagnostics of bladder cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 2009, vol. 4, no. 1, pp. 251–285. <https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.4.110807.092230>
14. Hoque M. O., Begum S., Brait M., Jeronimo C., Zahurak M., Ostrow K. L., Rosenbaum E., Trock B., Westra W. H., Schoenberg M., Goodman S. N., Sidransky D. Tissue inhibitor of metalloproteinases-3 promoter methylation is an independent prognostic factor for bladder cancer. *Journal of Urology*, 2008, vol. 179, no. 2, pp. 743–747. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2007.09.019>
15. Krajnović M., Radojković M., Davidović R., Dimitrijević B., Krtolica K. Prognostic significance of epigenetic inactivation of p16, p15, MGMT and DAPK genes in follicular lymphoma. *Medical Oncology*, 2013, vol. 30, no. 1, pp. 441. <https://doi.org/10.1007/s12032-012-0441-3>

16. Peng D., Zhang H., Sun G. The relationship between P16 gene promoter methylation and gastric cancer: a meta-analysis based on Chinese patients. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 2014, vol. 10, no. 8, suppl., pp. C292–C295. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.151535>
17. El-Naggar A. K., Lai S., Clayman G., Lee J. K., Luna M. A., Goepfert H., Batsakis J. G. Methylation, a major mechanism of p16/CDKN2 gene inactivation in head and neck squamous carcinoma. *American Journal of Pathology*, 1997, vol. 151, no. 6, pp. 1767–1774.
18. Hinrichsen I., Kemp M., Peveling-Oberhag J., Passmann S., Plotz G., Zeuzem S., Brieger A. Promoter methylation of MLH1, PMS2, MSH2 and p16 is a phenomenon of advanced-stage HCCs. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 1, p. e84453. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084453>
19. Wang J., Sasco A. J., Fu C., Xue H., Guo G., Hua Z., Zhou Q., Jiang Q., Xu B. Aberrant DNA methylation of P16, MGMT, and hMLH1 genes in combination with MTHFR C677T genetic polymorphism in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 2008, vol. 17, no. 1, pp. 118–125. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-0733>
20. Bachman K. E., Herman J. G., Corn P. G., Merlo A., Costello J. F., Cavenee W. K., Baylin S. B., Graff J. R. Methylation-associated silencing of the tissue inhibitor of metalloproteinase-3 gene suggest a suppressor role in kidney, brain, and other human cancers. *Cancer Research*, 1999, vol. 59, no. 4, pp. 798–802.
21. Zöchbauer-Müller S., Fong K. M., Virmani A. K., Geradts J., Gazdar A. F., Minna J. D. Aberrant promoter methylation of multiple genes in non-small cell lung cancers. *Cancer Research*, 2001, vol. 61, no. 1, pp. 249–255.
22. Serizawa R. R., Ralfkiaer U., Steven K., Lam G. W., Schmiedel S., Schüz J., Hansen A. B., Horn T., Guldborg P. Integrated genetic and epigenetic analysis of bladder cancer reveals an additive diagnostic value of FGFR3 mutations and hypermethylation events. *International Journal of Cancer*, 2011, vol. 129, no. 1, pp. 78–87. <https://doi.org/10.1002/ijc.25651>
23. Hoque M. O., Begum S., Topaloglu O., Chatterjee A., Rosenbaum E., Van Criekinge W., Westra W. H., Schoenberg M., Zahurak M., Goodman S. N., Sidransky D. Quantitation of promoter methylation of multiple genes in urine DNA and bladder cancer detection. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 2006, vol. 98, no. 14, pp. 996–1004. <https://doi.org/10.1093/jnci/djj265>
24. Friedrich M. G., Weisenberger D. J., Cheng J. C., Chandrasoma S., Siegmund K. D., Gonzalzo M. L., Toma M. I., Huland H., Yoo C., Tsai Y. C., Nichols P. W., Bochner B. H., Jones P. A., Liang G. Detection of methylated apoptosis-associated genes in urine sediments of bladder cancer patients. *Clinical Cancer Research*, 2004, vol. 10, no. 22, pp. 7457–7465. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-0930>
25. Friedrich M. G., Chandrasoma S., Siegmund K. D., Weisenberger D. J., Cheng J. C., Toma M. I., Huland H., Jones P. A., Liang G. Prognostic relevance of methylation markers in patients with non-muscle invasive bladder carcinoma. *European Journal of Cancer*, 2005, vol. 41, no. 17, pp. 2769–2778. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2005.07.019>
26. Orlow I., LaRue H., Osman I., Lacombe L., Moore L., Rabbani F., Meyer F., Fradet Y., Cordon-Cardo C. Deletions of the *INK4A* gene in superficial bladder tumors. Association with recurrence. *American Journal of Pathology*, 1999, vol. 155, no. 1, pp. 105–113. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65105-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65105-X)
27. Kawamoto K., Enokida H., Gotanda T., Kubo H., Nishiyama K., Kawahara M., Nakagawa M. p16INK4a and p14ARF methylation as a potential biomarker for human bladder cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2006, vol. 339, no. 3, pp. 790–796. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.11.072>
28. Weinstein J. N., Akbani R., Broom B. M., Wang W., Verhaak R. G. W., McConkey D. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature*, 2014, vol. 507, no. 7492, pp. 315–322. <https://doi.org/10.1038/nature12965>
29. Qi D., Li J., Jiang M., Liu C., Hu Y., Li M., Su J., Que B., Ji W. The relationship between promoter methylation of *p16* gene and bladder cancer risk: a meta-analysis. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2015, vol. 8, no. 11, pp. 20701–20711.
30. Marsit C. J., Karagas M. R., Danaee H., Liu M., Andrew A., Schned A., Nelson H. H., Kelsey K. T. Carcinogen exposure and gene promoter hypermethylation in bladder cancer. *Carcinogenesis*, 2006, vol. 27, no. 1, pp. 112–116. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgil72>
31. Sacristan R., Gonzalez C., Fernández-Gómez J. M., Fresno F., Escaf S., Sánchez-Carbayo M. Molecular classification of non-muscle-invasive bladder cancer (pTa low-grade, pT1 low-grade, and pT1 high-grade subgroups) using methylation of tumor-suppressor genes. *Journal of Molecular Diagnostics*, 2014, vol. 16, no. 5, pp. 564–572. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2014.04.007>
32. Agundez M., Grau L., Palou J., Algaba F., Villavicencio H., Sanchez-Carbayo M. Evaluation of the methylation status of tumour suppressor genes for predicting bacillus Calmette-Guérin response in patients with T1G3 high-risk bladder tumours. *European Urology*, 2011, vol. 60, no. 1, pp. 131–140. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2011.04.020>
33. Yates D. R., Rehman I., Abbod M. F., Meuth M., Cross S. S., Linkens D. A., Hamdy F. C., Catto J. W. Promoter hypermethylation identifies progression risk in bladder cancer. *Clinical Cancer Research*, 2007, vol. 13, no. 7, pp. 2046–2053. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-2476>
34. Casadio V., Molinari C., Calistri D., Tebaldi M., Gunelli R., Serra L., Falcini F., Zingaretti C., Silvestrini R., Amadori D., Zoli W. DNA methylation profiles as predictors of recurrence in non muscle invasive bladder cancer: an MS-MLPA approach. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 2013, vol. 32, pp. 94. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-32-94>
35. Worm J., Guldborg P. DNA methylation: an epigenetic pathway to cancer and a promising target for anticancer therapy. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 2002, vol. 31, no. 8, pp. 443–449. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0714.2002.00034.x>
36. Smal' M. P., Rolevich A. I., Nabebina T. I., Krasny S. A., Goncharova R. I. *RUNX3* gene methylation status as a prognostic factor in non-muscle-invasive bladder cancer. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2015, vol. 59, no. 5, pp. 85–90 (in Russian).
37. Smal' M. P., Rolevich A. I., Nabebina T. I., Krasny S. A., Goncharova R. I. *TP53* gene mutations and their prognostic significance in bladder cancer. *Molekulyarnaya meditsina [Molecular medicine]*, 2015, no. 6, pp. 26–32 (in Russian).

Информация об авторах

Смаль Маргарита Петровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: marharyta.smal@gmail.com

Никитченко Наталья Васильевна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: N.Nikitchenko@igc.by

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

Набеева Татьяна Ивановна – канд. мед. наук, врач патогистологической лаборатории. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: nabebina.t@yandex.by

Красный Сергей Анатольевич – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, заместитель директора. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: sergeykrasny@tut.by

Гончарова Роза Иосифовна – д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: R.Goncharova@igc.by

Information about the authors

Marharyta P. Smal – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: marharyta.smal@gmail.com

Nataliya V. Nikitchenko – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: N.Nikitchenko@igc.by

Alexander I. Rolevich – Ph. D. (Med.), Leading researcher. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: alexander.rolevich@gmail.com

Tatiana I. Nabebina – Ph. D. (Med.), pathohistologist. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: nabebina.t@yandex.by

Sergei A. Krasny – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Deputy Director. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: sergeykrasny@tut.by

Roza I. Goncharova – D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: R.Goncharova@igc.by

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 617.5-089.844

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-276-285>

Поступила в редакцию 21.05.2018

Received 21.05.2018

О. А. Даниленко¹, Е. Р. Макаревич², Н. С. Сердюченко³, С. В. Леонард⁴

¹6-я городская клиническая больница, Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

³Национальная академия наук Республики Беларусь, Минск, Республика Беларусь

⁴Брестская городская больница СМП, Брест, Республика Беларусь

ТАКТИКА ЛЕЧЕНИЯ НЕСТАБИЛЬНОСТИ СУХОЖИЛИЯ ДЛИННОЙ ГОЛОВКИ ДВУГЛАВОЙ МЫШЦЫ ПЛЕЧА

Аннотация. Изучены результаты лечения 66 пациентов с нестабильностью сухожилия длинной головки бицепса (СДГБ), пролеченных за период с 2004 по 2017 г. В зависимости от диагностированного типа нестабильности СДГБ обследуемые были разделены на 5 групп по классификации Bennet (2003). Задача, поставленная исследователями, состояла в формировании тактических подходов с учетом характера повреждения ротаторно-бицепитального комплекса при различных типах нестабильности СДГБ. Пациентам групп 1 и 2 назначали курс консервативной терапии, пациентам групп 3–5 рекомендовали оперативное лечение с использованием артроскопии и собственных методов. Применение тактических подходов и способов, разработанных авторами, позволило улучшить объективные показатели функции сустава и субъективные ощущения пациентов.

Ключевые слова: нестабильность бицепса, повреждения бицепса, вывих бицепса, вращательная манжета плеча

Для цитирования: Тактика лечения нестабильности сухожилия длинной головки двуглавой мышцы плеча / О. А. Даниленко [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 276–285. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-276-285>

О. А. Danilenko¹, Е. R. Makarevich², N. S. Serdiuchenko³, S. V. Leonard⁴

¹6th City Clinical Hospital, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

³National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

⁴Brest City Emergency Hospital, Brest, Republic of Belarus

TACTICS OF TREATMENT OF THE INSTABILITY OF THE TENDON OF THE LONG HEAD OF THE BICEPS BRACHII

Abstract. The authors of the article studied the results of treatment of 66 patients with an unstable tendon of the long head of the biceps treated for the period from 2004 to 2017. In the study, patients, depending on a diagnosed type of the instability of the tendon of the long head of the biceps according to the Bennet classification (2003), were divided into 5 groups. The task put forward by the researchers consisted in the formation of tactical approaches, taking into account the type of damage to a rotary-bicipital complex for the various-type instability of the tendon of the long head. In the treatment of patients of groups 1 and 2, a course of conservative therapy was prescribed. Patients of groups 3–5 were recommended surgical treatment using the arthroscopy and methods developed by the authors. With the use of the tactical approaches and methods developed by the authors, it was possible to improve objective indicators of joint functions and subjective sensations of patients.

Keywords: biceps instability, biceps damage, biceps dislocation, rotator cuff of shoulder

For citation: Danilenko O. A., Makarevich E. R., Serdiuchenko N. S., Leonard S. V. Tactics of treatment of the instability of the tendon of the long head of the biceps brachii. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk* = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 276–285 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-276-285>

Введение. Посттравматические боли в плечевом суставе являются достаточно частым явлением и встречаются как у мужчин, так и у женщин трудоспособного возраста [1, 2]. Основной контингент пациентов с повреждением сухожилия двуглавой мышцы плеча – люди трудоспособного возраста с высокими запросами к функции плечевого сустава, что подчеркивает социально-экономическую значимость рассматриваемой проблемы. Одной из наиболее частых причин, определяющих болезненные ощущения в переднем отделе плечевого сустава, является нестабильность сухожилия длинной головки бицепса (СДГБ) [3, 4].

По данным отдельных исследований, совместное поражение СДГБ и элементов вращательной манжеты плеча составляет 31–56 % от всех повреждений плечевого сустава [4]. Что касается нестабильности СДГБ, в большинстве случаев отмечают одновременное повреждение сухожилий подлопаточной и надостной мышц [3, 5–7].

Особенности анатомии сухожилия, заключающиеся в обильной сенсорной иннервации, определяют выраженность болевых ощущений при его патологии и, соответственно, высокую частоту обращений пациентов даже при незначительной степени поражения [8].

Несмотря на то что впервые данная проблема упоминается еще в трудах Гиппократов, в отечественной литературе вопросу нестабильности сухожилия бицепса уделено незаслуженно мало внимания. Пациенты с данной патологией зачастую необоснованно длительно и безуспешно лечатся с диагнозом периартрит плечевого сустава, при этом знания практических врачей о данной патологии крайне скудны.

В 2003 г. W. F. Bennett [5] описал комплекс изменений, возникающих в ротаторном аппарате плечевого сустава при дислокации СДГБ, и классифицировал их. Указания на тесную анатомо-функциональную взаимосвязь поврежденных ротаторного аппарата и СДГБ как посредством pulley, так и прямым воздействием друг на друга имеются в работах и других авторов [9–13].

В настоящее время существует несколько классификаций патологических изменений СДГБ, в частности классификации Habermeyer [9], Walch [10], Burkhead [11], Lafosse [14]. В 2004 г. Habermeyer классифицировал анатомические структуры вращательной манжеты плеча и бицепса, используя посекторальный подход. С точки зрения практического врача данная классификация удобна в части определения диагностических и тактических подходов.

На сегодняшний день для устранения проблемы нестабильности СДГБ в большинстве случаев используют два вида вмешательств – тенотомию и тенодез. Данные вмешательства применяются независимо от типа нестабильности СДГБ, не учитывая степень повреждения ротаторного аппарата плечевого сустава. К преимуществам тенотомии можно отнести ее малотравматичность при выполнении в артроскопическом формате и быстрый темп последующей реабилитации, к недостаткам – косметическую деформацию Poreue, снижение силы бицепса, но самым главным недостатком является то, что при вмешательстве игнорируются сопутствующие повреждения со стороны ротаторного аппарата [15]. Преимущества же тенодеза заключаются в сохранении силы, отсутствии косметической деформации, однако чаще отмечают сохраняющиеся болевые ощущения в переднем отделе сустава, миграцию фиксаторов, остаются без внимания вопросы реконструкции ротаторной манжеты [16].

Таким образом, тактика лечения пациентов с нестабильностью СДГБ, основанная на дифференцированных подходах и новых способах оперативного лечения, в основу которых положен принцип выявления, учета и щадящего отношения к элементам РБК, является перспективным путем решения данной проблемы.

Цель работы – улучшение результатов лечения пациентов с нестабильностью сухожилия длинной головки бицепса как элемента ротаторно-бицепитального комплекса с применением разработанной авторами дифференцированной лечебной тактики.

Материалы и методы исследования. В соответствии с целью исследования проведен проспективный и ретроспективный анализ диагностических методов и результатов лечения 66 пациентов за период с 2004 по 2017 г. Исследование носило открытый сплошной характер и осуществлялось с одобрения комиссий по этике лечебных учреждений, на базе которых оно проводилось.

Среди пациентов подавляющее большинство составляли мужчины – 51 (77,3 %). Возраст варьировался от 19 до 77 лет, средний возраст составлял $47,3 \pm 15,9$ года ($M \pm SD$) (табл. 1).

В отделение поступили 25 (37,9 %) пациентов с диагнозом, кодируемым как М 24.4 по МКБ-10 (повторяющиеся вывихи и подвывихи сустава), 41 (62,1 %) – с кодом S 46 (травма мышцы и сухожилия на уровне плечевого пояса и плеча). В 24 (36,4 %) случаях длительность заболевания составляла до 3 мес., в 29 (43,9 %) – от 3 до 5 мес., в 13 (19,7 %) – более 5 мес.

Повреждения первого типа выявлены у 10 (15,2 %) пациентов, второго – у 6 (9,1 %), третьего – у 20 (30,3 %), четвертого – у 16 (24,2 %), пятого – у 14 (21,2 %). В зависимости от выявленного в соответствии с классификацией Bennet типа повреждения все пациенты были разделены на 5 групп.

Т а б л и ц а 1. Распределение пациентов ($n = 66$) с нестабильностью сухожилия длинной головки бицепса по возрасту, полу и стороне пораженияT a b l e 1. Patient distribution ($n = 66$) with the instability of the tendon of the long head of the biceps by age, sex and lesion side

| Пол | Сторона поражения | Возраст, лет | | | Всего, n (%) |
|---------|-------------------|----------------|----------------|----------------------|----------------|
| | | 16–24, n (%) | 25–60, n (%) | 60 и старше, n (%) | |
| Мужской | Правая | 8 (12,1) | 31 (47,0) | 2 (3,0) | 41 (62,1) |
| | Левая | 2 (3,0) | 8 (12,1) | – | 10 (15,2) |
| | Двустороннее | – | – | – | – |
| Женский | Правая | – | 7 (10,6) | 5 (7,6) | 12 (18,2) |
| | Левая | – | 2 (3,0) | 1 (1,5) | 3 (4,5) |
| | Двустороннее | – | – | – | – |
| Всего | | 10 (15,2) | 48 (72,7) | 8 (12,1) | 66 (100) |

Клинический осмотр осуществляли в соответствии с разработанной нами и утвержденной МЗ РБ инструкцией по диагностике повреждений РБК. Диагностика поражений СДГБ основана на выявлении степени и локализации поражения как ротаторного аппарата, так и проблем со стороны бицепса.

Результаты примененных диагностических подходов к пациентам всех групп приведены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. Повреждения РБК, выявленные у пациентов ($n = 66$) с нестабильностью сухожилия длинной головки бицепса, с разбивкой по секторам (Habermeyer, 2006)T a b l e 2. Damage to the rotary-bicipital complex detected in patients ($n = 66$) with the instability of the tendon of the long head of the biceps divided by sectors (Habermeyer, 2006)

| Показатель | Повреждения ротаторного аппарата, n (%) | | | Повреждения бицепитального элемента, n (%) | | Повреждения pulley, n (%) | Повреждения межротаторного интервала, n (%) |
|---------------------------------|---|-----------|----------|--|-----------|-----------------------------|---|
| | сектор 1 | сектор 2 | сектор 3 | сектор 1 | сектор 2 | | |
| Клинический осмотр ($n = 66$) | 56 (84,8) | 35 (53,3) | 8 (12,1) | 50 (75,8) | 34 (51,5) | 50 (75,8) | 37 (56,1) |
| МРТ ($n = 56$) | 48 (85,7) | 31 (55,3) | 8 (12,1) | 40 (60,6) | 12 (18,2) | 43 (76,8) | 16 (24,2) |
| УЗИ ($n = 58$) | 33 (50,0) | 27 (40,9) | 2 (3,4) | 40 (68,9) | 0 | 21 (36,2) | 10 (15,2) |
| Артроскопия ($n = 38$) | 38 (100) | 30 (78,9) | 3 (7,9) | 4 (10,5) | 12 (31,6) | 12 (31,6) | 6 (15,8) |

Рентгенография выполнена всем пациентам (100 %), МРТ – 56 (84,8 %), УЗИ – 58 (87,9 %). При оказании помощи данной категории пациентов придерживались разработанной нами тактики лечения с использованием классификации повреждений, разработанной Bennett (2003).

Группа 1. При лечении пациентов группы 1 назначали курс консервативной терапии, включающей временную иммобилизацию конечности повязкой типа Дезо в положении приведения и внутренней ротации плечевого сустава, трехэтапное физиотерапевтическое лечение по разработанной схеме, комплекс ЛФК, введение по ходу бицепитальной борозды препаратов гиалуроновой кислоты (гилартен) и в 3 случаях – PRP (клеточность 1 млн/мкл) под контролем УЗИ.

Группа 2. Консервативное лечение пациентов данной группы также подразумевало временную иммобилизацию конечности повязкой типа Дезо в положении приведения и внутренней ротации плечевого сустава, трехэтапное физиотерапевтическое лечение по разработанной схеме, курс ЛФК, двукратное введение по ходу бицепитальной борозды PRP (клеточность 1 млн/мкл) под контролем УЗИ с интервалом 7 сут и последующим введением через 14 сут препаратов гиалуроновой кислоты (гилартена). При неэффективности курса пациентам предлагалось оперативное лечение.

Группа 3. При оперативном лечении пациентов группы 3 выполняли артроскопическое или артроскопически-видеоассистированное малоинвазивное вмешательство с целью вправления СДГБ в сухожильную борозду с восстановлением удерживателя (патент Евразийского патентного ведомства № ЕА201600049А1 20170630). Применение данного способа предполагает ревизию СДГБ, ротаторов, бицепитальной борозды. По ходу борозды удаляли неровности, из сухожилия

подлопаточной мышцы выкраивали лоскут, прошивали его рассасывающейся нитью и перебрашивали через СДГБ, предварительно уложенного в бицепитальную борозду, фиксируя чрескостным швом. Проверяли скольжение и стабильность СДГБ в борозде. Место забора лоскута ушивали с тонизацией подлопаточной мышцы. После наложения швов на раны накладывали асептические повязки и повязку Дезо.

Группа 4. Оперативное лечение пациентов этой группы подразумевало восстановление характерного повреждения со стороны подлопаточной мышцы, при необходимости – импакционное углубление борозды с восстановлением ее костной анатомии. При этом использовали следующие методики: костную аутопластику, вправление сухожилия длинной головки бицепса в сухожильную борозду с восстановлением удерживателя (медиальной головки клювоплечевой связки), рефиксацию сухожилия надостной мышцы, а также пластику латеральной порции клювоплечевой связки с использованием способа, предложенного для третьего типа. При выраженной дегенерации и/или деформации СДГБ выполняли тенodes последнего к головке плечевой кости (патент РБ № 21257).

Группа 5. При оперативном лечении пациентам группы 5 осуществляли тенodes сухожилия бицепса и восстановление поврежденных сухожилий надостной и подлопаточной мышц по собственному способу (патент РБ № 21257). Выбор такой тактики обусловлен выраженными дегенеративными и посттравматическими изменениями сухожилия длинной головки бицепса. Применение этого способа предполагало поэтапное выполнение следующих задач: освежение сухожильной борозды бицепса, тупое и острое выделение СДГБ и его фиксация трансоссальным швом при помощи спицы с ушком в сухожильной борозде, сшивание поперечной связки. На заключительном этапе операции проверяли прочность достигнутой фиксации. Иммобилизацию осуществляли косыночной повязкой на срок до 3 недель.

Результаты исследования. Оценку результатов производили в сроки 3, 6 мес., а далее фиксировали результат последнего констатированного документально обращения пациента. В соответствии с методикой оценки по Оксфордскому опроснику (ООП) для плеча результат лечения оценивали в баллах. Для оценки функции использовали также шкалу Rowe, с помощью которой определяли устойчивость плечевого сустава, объем движений, восстановление профессиональных и спортивных навыков.

Для статистической обработки результатов использовали программное обеспечение StatSoft Statistica 10 для Windows (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA), Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft Corp., Redmond, WA, США), а также общепринятые методы медико-биологической статистики. Для проверки соответствия распределения количественных параметров закону Гаусса производили расчет критериев Колмогорова–Смирнова и оценивали параметры описательной статистики. При соответствии распределения значений параметра закону Гаусса данные были представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое значения параметра, SD – стандартное отклонение. При несоответствии распределения значений параметра закону нормального распределения данные представляли в виде $Me [Q_{25}; Q_{75}]$, где Me – медиана, Q_{25} – значение 25-го перцентиля, Q_{75} – значение 75-го перцентиля. Для сравнительного анализа выборок использовали критерий Вилкоксона.

Группа 1. Согласно результатам лечения пациентов группы 1, у них отмечалась положительная динамика показателей как по шкале ООП, так и по шкале Rowe (табл. 3).

Наблюдаемое различие в результатах балльной оценки пациентов группы до и после примененных методов, оцененное с использованием критерия Вилкоксона, было статистически значимым. Средние сроки временной нетрудоспособности пациентов группы составили 13,5 [12; 15] сут ($Me [Q_{25}; Q_{75}]$).

Группа 2. Как и в группе 1, у пациентов отмечена положительная динамика показателей и зафиксирован отличный результат лечения по обоим шкалам (табл. 3).

Таким образом, консервативные подходы при лечении пациентов групп 1 и 2 в абсолютном большинстве случаев продемонстрировали свою эффективность, что выразилось в восстановлении полной амплитуды движений и их безболезненности. К особенностям проведенного лече-

Т а б л и ц а 3. Оценка результатов лечения пациентов с нестабильностью сухожилия длинной головки бицепса на момент последнего обращения ($n = 66$)T a b l e 3. Evaluation of the results of treatment of patients with the instability of the tendon of the long head of the biceps at the time of the last treatment ($n = 66$)

| Методика оценки | Оценка, n (%) | | | | Оценка, балл (Me [Q_{25} ; Q_{75}]) | | Критерий Вилкоксона (p) |
|-----------------|-----------------|----------|-------------------|---------------------|---|----------------------------|-----------------------------|
| | Отлично | Хорошо | Удовлетворительно | Неудовлетворительно | до оперативного лечения | после оперативного лечения | |
| <i>Группа 1</i> | | | | | | | |
| ООП | 7 (70,0) | 2 (20,0) | 1 (10,0) | 0 | 56 [48; 58] | 12 [12; 28] | 0,005 |
| Rowe | 6 (60,0) | 2 (20,0) | 2 (20,0) | 0 | 15 [15; 15] | 90 [75; 100] | 0,005 |
| <i>Группа 2</i> | | | | | | | |
| ООП | 3 (50,0) | 2 (33,3) | 1 (16,7) | 0 | 47 [44; 58] | 18 [12; 22] | 0,03 |
| Rowe | 3 (50,0) | 1 (16,7) | 1 (16,7) | 1 (16,7) | 55 [25; 60] | 82,5 [55; 90] | 0,04 |
| <i>Группа 3</i> | | | | | | | |
| ООП | 14 (70,0) | 2 (10,0) | 4 (20,0) | 0 | 54 [47; 56] | 12 [12; 22] | 0,00009 |
| Rowe | 11 (55,0) | 4 (20,0) | 4 (20,0) | 1 (5,0 %) | 57,5 [20; 75] | 90 [65; 100] | 0,0002 |
| <i>Группа 4</i> | | | | | | | |
| ООП | 4 (25,0) | 6 (37,5) | 6 (37,5) | 0 | 56 [50; 57] | 22 [18; 32] | 0,0004 |
| Rowe | 9 (56,3) | 3 (18,8) | 2 (12,5) | 2 (12,5) | 75 [20; 75] | 90 [65; 100] | 0,001 |
| <i>Группа 5</i> | | | | | | | |
| ООП | 10 (71,4) | 1 (7,1) | 2 (14,3) | 1 (7,1) | 50 [44; 56] | 14 [12; 32] | 0,001 |
| Rowe | 11 (78,6) | 1 (7,1) | 2 (14,3) | 0 | 75 [55; 75] | 100 [75; 100] | 0,01 |

ния пациентов групп 1 и 2 относится введение препаратов гиалуроновой кислоты и PRP с использованием контроля УЗИ. С помощью препаратов создавали условия для безболезненного скольжения сухожилия в борозде, при этом пациентам в обязательном порядке ограничивали виды движений, провоцирующих сублюксацию сухожилия.

Полученный неблагоприятный результат при оценке результата по шкале Rowe при благоприятной оценке ООП, на наш взгляд, связан с низкой мотивацией пациента пожилого возраста при проведении лечения (нерегулярное посещение лечебных мероприятий).

Сроки временной нетрудоспособности колебались от 4 до 14 сут и составили 10 [4; 14] сут (Me [Q_{25} ; Q_{75}]).

Группа 3. Оперативное лечение позволило достигнуть благоприятного результата у всех прооперированных пациентов этой группы (табл. 3).

В одном случае ввиду выраженной дегенерации сухожилия мы вынуждены были выполнить тенodes последнего. При выраженной дегенерации медиальной порции клювоплечевой связки у 16 (80 %) пациентов вмешательство выполнено с использованием реконструкции удерживателя путем латерализации верхней порции сухожилия подлопаточной мышцы, а у 4 (20,0 %) человек оно дополнено углублением верхнего отдела бицепитальной борозды ввиду выраженной сглаженности последней. В 8 (40,0 %) случаях вмешательство выполнено полностью в артроскопическом формате.

Сроки временной нетрудоспособности колебались от 44 до 58 сут и составили 48 [44; 56] сут (Me [Q_{25} ; Q_{75}]).

Группа 4. На момент обращения пациенты данной группы имели длительный анамнез заболевания и наблюдались с различными диагнозами у других специалистов, что определило тяжесть дегенеративных изменений элементов РБК. Результаты лечения пациентов этой группы представлены в табл. 3.

Всем пациентам данной группы вмешательство выполняли в соответствии с разработанными подходами в артроскопическом формате. В 1 (6,3 %) случае выполнен верхний тенodes сухожилия ввиду деформации последнего по типу песочных часов (hourglass). Пациентам с повреждением подлопаточной мышцы и межротаторного интервала выполнено его ушивание. Для углубления бицепитальной борозды, понадобившегося в 2 случаях, использовали разработанное нами приспособление. В 7 случаях осуществлена реконструкция бицепитальной борозды.

Сроки временной нетрудоспособности колебались от 49 до 130 сут и составили 90 [76; 110] сут (Me [Q_{25} ; Q_{75}]).

Группа 5. Наиболее сложный вариант повреждения наблюдался у пациентов группы 5 с наличием вывиха сухожилия и выраженным застарелым повреждением ротаторного аппарата. В 8 случаях применение разработанного нами способа оперативного лечения нестабильности СДГБ (патент РБ № 21257) позволило достичь благоприятного клинического результата.

Пример выполнения. Пациент Б., 43 лет, поступил в отделение с клиническим диагнозом: повреждение вращательной манжеты правого плеча, импичмент-синдром. Результаты дообследования с использованием разработанного алгоритма показали наличие повреждений в секторах 1 и 2. На МРТ выявлено полное повреждение сухожилия подлопаточной мышцы, медиальная дислокация СДГБ с дегенеративными изменениями последнего и выпотом по ходу сухожилия, полный разрыв межротаторного интервала и pulley (рис. 1). Пациенту предложено оперативное лечение.

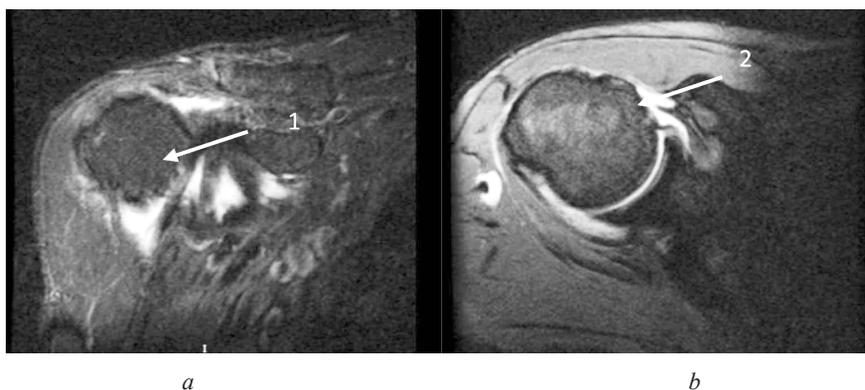


Рис. 1. МРТ пациента Б. до оперативного лечения: *a* – корональная проекция; *b* – аксиальная проекция; 1 – дислоцированное СДГБ; 2 – повреждение подлопаточной мышцы

Fig. 1. MRI of patient B. before surgery: *a* – coronal projection; *b* – axial projection; 1 – dislocated tendons of the long head of the biceps; 2 – injury of the subscapular muscle

Артроскопически подтверждены: дислокация СДГБ медиально с дегенерацией и деформацией по типу песочных часов, разрыв межротаторного интервала и pulley, полный разрыв и деформация сухожилия подлопаточной мышцы (рис. 2). Выполнены дополнительные, передний и латеральный, артроскопические доступы, из которых тупо и остро выделено СДГБ и осуществлено его прошивание трансоссальным швом при помощи спицы с ушком в сухожильной борозде на уровне головки плечевой кости (рис. 3). Внутрисуставная порция бицепса в связи с выраженным утолщением иссечена. Выполнены трансоссальная рефиксация сухожилия подлопаточной мышцы и закрытие межротаторного интервала (рис. 3, 4). На заключительном этапе операции осуществлены проверка прочности достигнутой фиксации и шва доступов, иммобилизация повязкой Дезо на срок до 5 недель.

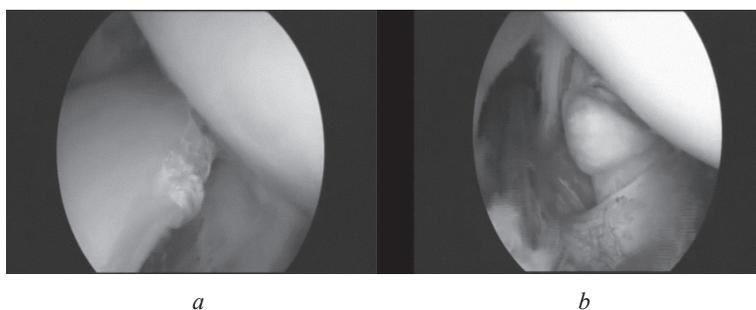


Рис. 2. Этапы оперативного вмешательства (артроскопическая картина со стороны сустава, задний порт): *a* – деформация по типу песочных часов внутрисуставной части сухожилия длинной головки бицепса; *b* – повреждение сухожилия подлопаточной мышцы

Fig. 2. Stages of surgical intervention (arthroscopic pattern of the joint, rear port): *a* – deformation by the hourglass type of the intraarticular part of the tendon of the long head of the biceps; *b* – injury of the tendon of the subscapular muscle

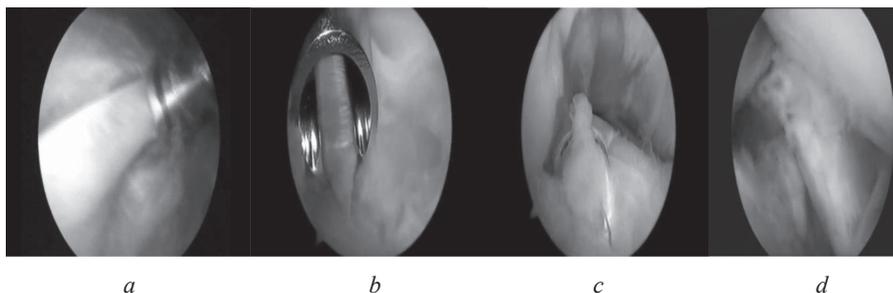


Рис. 3. Этапы оперативного вмешательства (артроскопическая картина в подакромиальном пространстве, латеральный порт): *a* – сухожилие длинной головки бицепса выделено на протяжении бицепитальной борозды; *b* – после освежения бицепитальной борозды в подакромиальное пространство введены направляющий и спица; *c* – осуществлен тенотез сухожилия в бицепитальной борозде; *d* – рефиксировано сухожилие подлопаточной мышцы

Fig. 3. Stages of surgical intervention (arthroscopic pattern in the podkromialnom space, lateral port): *a* – the tendon of the long head of the biceps is allocated during the bicipital sulcus; *b* – after freshening the bicipital sulcus, the guide and the needle are inserted into the paracromial space; *c* – the tendonosis is tentodeosal in the bicipital sulcus; *d* – the tendon of the subscapular muscle is fixed

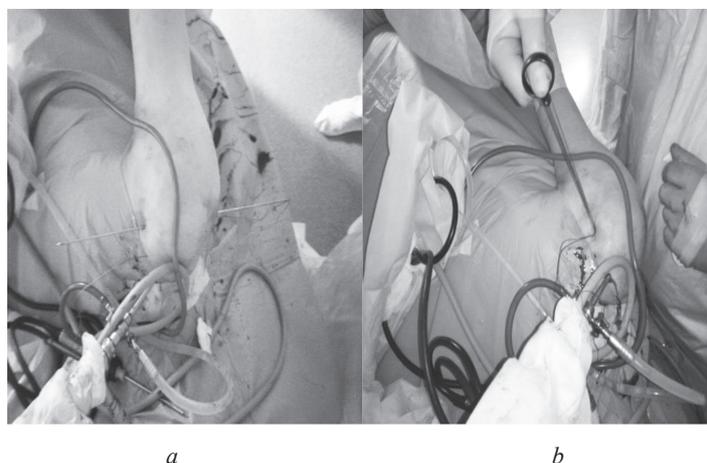


Рис. 4. Этапы оперативного вмешательства: *a* – проведена спица трансоссально; *b* – завязывание швов на прошитом трансоссально сухожилии бицепса

Fig. 4. Stages of surgical intervention: *a* – the needle is held transossally; *b* – we tie the seams on the sewn tricosomal biceps tendons

Пациент выписан из стационара на 6-е сутки. Проведен курс восстановительного лечения после истечения срока иммобилизации. При контрольном осмотре через 12 недель достигнута полная безболезненная функция плечевого сустава. На контрольной МРТ в сроке 12 недель: СДГБ находится в борозде, удерживатель бицепса фиксирован, сухожилие подлопаточной мышцы тонизировано и фиксировано в анатомической зоне (рис. 5).

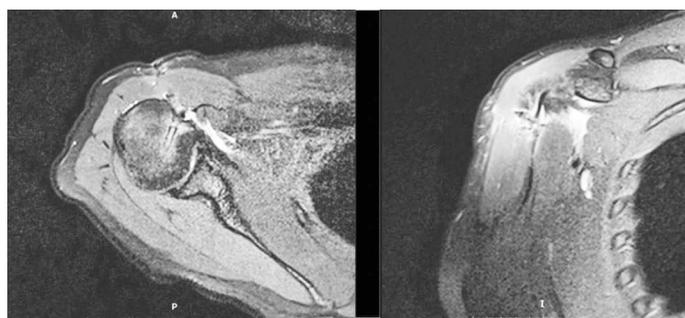


Рис. 5. МРТ пациента Б. после оперативного лечения (через 12 недель)
Fig. 5. MRI of patient B. after surgical treatment (after 12 weeks)

В 6 случаях выполнен тенодез, при этом в 1 случае после выполненного тенодеза с применением анкерного фиксатора наблюдался отрыв сухожилия на уровне фиксатора с развитием деформации Poreuse.

Таким образом, согласно шкалам ООП и Rowe, у абсолютного большинства пациентов (13 (92,9 %) и 14 (100 %) человек соответственно), несмотря на тяжесть повреждения РБК, удалось улучшить функцию плечевого сустава. Сроки временной нетрудоспособности пациентов данной группы составили 110 [94; 140] сут (от 87 до 190 сут).

Общая оценка результатов лечения. Результаты нашего исследования подтверждают данные других исследователей о том, что нестабильность СДГБ чаще наблюдается у лиц трудоспособного возраста (58 (87,9 %) человек), в основном у мужчин (51 (77,3 %) пациент). При этом у обследуемых доминировали повреждения правой конечности. Наибольшее количество зарегистрированных обращений, по классификации Bennet, пришлось на третий и четвертый типы повреждения. Разработанный алгоритм клинической диагностики повреждений оказался эффективен в постановке диагноза. Рентгенография плечевого сустава позволяла выявить изменения в области большого и малого бугорков. В отношении внесуставной части бицепитального элемента и при повреждениях первого и второго типа более высокую информативность продемонстрировало УЗИ плечевого сустава с проведением проб на этапе углубленного обследования. МРТ имела преимущество в отношении диагностики повреждения мышц ротаторов и бицепитального элемента в секторе 2.

У пролеченных 66 пациентов, согласно ООП, зарегистрировано 38 (57,6 %) отличных, 13 (19,7 %) хороших, 14 (21,2 %) удовлетворительных и 1 (1,5 %) неудовлетворительный результат лечения. Результат оценки представлен в виде Ме [Q₂₅; Q₇₅] и составил до лечения 56 [46; 56] баллов, а после – 14 [12; 32]. Различия в оценке, полученные с помощью G-критерия знаков, были статистически значимы ($p < 0,000001$).

При оценке по шкале Rowe, позволяющей зафиксировать достигнутый функциональный результат и стабильность плечевого сустава, зарегистрировано 40 (60,6 %) отличных, 11 (16,7 %) хороших, 11 (16,7 %) удовлетворительных и 4 (6,1 %) неудовлетворительных результата лечения. Результаты оценки представлены в виде Ме [Q₂₅; Q₇₅] и составили до лечения 55 [15; 75] баллов, а после – 90 [75; 100]. Различия в балльной оценке результатов лечения пациентов группы до и после примененных методов, полученные с помощью G-критерия знаков, были статистически значимы ($p < 0,000001$).

Наибольшие различия в результатах лечения до и после отмечались у пациентов с третьим типом повреждения по Bennett. По нашему мнению, это обусловлено отсутствием выраженной дегенерации и грубых нарушений анатомии у пациентов с данным типом повреждений. При сравнительном анализе результатов лечения пациентов, пролеченных с применением артроскопии и малоинвазивного формата лечения, не отмечено статистически достоверных различий в балльной оценке как по шкале Rowe, так и по шкале ООП. Сроки пребывания в стационаре составили при малоинвазивном формате оперативного вмешательства $7,5 \pm 1,9$ сут [M \pm SD], при артроскопическом – $6,9 \pm 3,3$ сут [M \pm SD]. Нами не зарегистрировано статистически достоверных различий между данными параметрами.

Выводы

1. Нестабильность сухожилия длинной головки бицепса наиболее часто встречается у лиц трудоспособного возраста, что определяет социальную значимость данной проблемы.
2. Разработанный алгоритм клинической диагностики повреждений эффективен при постановке диагноза, дает возможность уточнить локализацию и степень повреждений элементов ротаторно-бицепитального комплекса при нестабильности сухожилия длинной головки бицепса.
3. Систематизация повреждений ротаторно-бицепитального комплекса с использованием классификации W. F. Bennet (2003) и топической классификации P. Habermeyer (2006) позволяет дать точное их описание и определить тактические подходы к их устранению.
4. Разработанные способы оперативного лечения предоставляют возможность устранить нестабильность сухожилия длинной головки бицепса и осуществить реконструкцию элементов ротаторно-бицепитального комплекса плечевого сустава.

5. Применение дифференцированных тактических подходов при лечении нестабильности сухожилия длинной головки бицепса статистически достоверно улучшает результаты лечения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Disorders of the long head of biceps tendon / M. Khazzam [et al.] // *J. Shoulder Elbow Surg.* – 2012. – Vol. 21, N 1. – P. 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.jse.2011.07.016>
2. Long head of the biceps tendon pain: differential diagnosis and treatment / R. J. Krupp [et al.] // *J. Orthop. Sports Phys. Ther.* – 2009. – Vol. 39, N 2. – P. 55–69. <https://doi.org/10.2519/jospt.2009.2802>
3. Classification and analysis of pathology of the long head of the biceps tendon in complete rotator cuff tears / C. H. Chen [et al.] // *Chang Gung Med. J.* – 2012. – Vol. 35, N 3. – P. 263–270.
4. Warner, J. J. The role of the long head of the biceps brachii in superior stability of the glenohumeral joint / J. J. Warner, P. J. McMahon // *J. Bone Joint Surg.* – 1995. – Vol. 77, N 3. – P. 366–372. <https://doi.org/10.2106/00004623-199503000-00006>
5. Bennett, W. F. Arthroscopic repair of anterosuperior (supraspinatus/subscapularis) rotator cuff tears: a prospective cohort with 2- to 4-year followup: classification of biceps subluxation and instability / W. F. Bennett // *Arthroscopy.* – 2003. – Vol. 19, N 1. – P. 21–33. <https://doi.org/10.1053/jars.2003.50023>
6. Mechanical properties of the long-head of the biceps tendon are altered in the presence of rotator cuff tears in a rat model / C. D. Peltz [et al.] // *J. Orthop. Res.* – 2009. – Vol. 27, N 3. – P. 416–420. <https://doi.org/10.1002/jor.20770>
7. Repair of tears of the subscapularis / T. B. Edwards [et al.] // *J. Bone Joint Surg.* – 2005. – Vol. 87, N 4. – P. 725–730. <https://doi.org/10.2106/jbjs.d.02051>
8. Alpantaki, K. Sympathetic and sensory neural elements in the tendon of the long head of the biceps / K. Alpantaki // *J. Bone Joint Surg.* – 2005. – Vol. 87, N 7. – P. 1580–1583. <https://doi.org/10.2106/jbjs.d.02840>
9. Anterosuperior impingement of the shoulder as a result of pulley lesions: a prospective arthroscopic study / P. Habermeyer [et al.] // *J. Shoulder Elbow Surg.* – 2004. – Vol. 13, N 1. – P. 5–12. <https://doi.org/10.1016/j.jse.2003.09.013>
10. Subluxations and dislocations of the tendon of the long head of the biceps / G. Walch [et al.] // *J. Shoulder Elbow Surg.* – 1998. – Vol. 7, N 2. – P. 100–108. [https://doi.org/10.1016/s1058-2746\(98\)90218-x](https://doi.org/10.1016/s1058-2746(98)90218-x)
11. The biceps tendon / W. Z. Burkhead [et al.] // *The shoulder : in 2 vol.* / C. A. Rockwood [et al.]. – 4th ed. – Philadelphia, 2009. – Vol. 2. – P. 1309–1360.
12. The influence of bicipital groove morphology on the stability of the long head of the biceps tendon / J. Ch. Yoo [et al.] // *J. Orthop. Surg.* – 2017. – Vol. 25, N 2. – 7 p. <https://doi.org/10.1177/2309499017717195>
13. Chronic lesser tuberosity avulsion in an adolescent with an associated biceps pulley injury / D. J. Mizrahi [et al.] // *Pediatr. Radiol.* – 2017. – Vol. 48, N 5. – P. 749–753. <https://doi.org/10.1007/s00247-017-4016-5>
14. Anterior and posterior instability of the long head of the biceps tendon in rotator cuff tears: a new classification based on arthroscopic observations / L. Lafosse [et al.] // *Arthroscopy.* – 2007. – Vol. 23, N 1. – P. 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2006.08.025>
15. Results of biceps tenotomy in the treatment of shoulder impingement and rotator cuff tears / A. N. Aydemir [et al.] // *Med. J. Bakirkoy.* – 2015. – Vol. 11, N 2. – P. 74–81.
16. Complications associated with subpectoral biceps tenodesis: low rates of incidence following surgery / S. J. Nho [et al.] // *J. Shoulder Elbow Surg.* – 2010. – Vol. 19, N 5. – P. 764–768. <https://doi.org/10.1016/j.jse.2010.01.024>

References

1. Khazzam M., George M. S., Churchill R. S., Kuhn J. E. Disorders of the long head of biceps tendon. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery*, 2012, vol. 21, no. 1, pp. 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.jse.2011.07.016>
2. Krupp R. J., Kevern M. A., Gaines M. D., Kotara S., Singleton S. B. Long head of the biceps tendon pain: differential diagnosis and treatment. *Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy*, 2009, vol. 39, no. 2, pp. 55–69. <https://doi.org/10.2519/jospt.2009.2802>
3. Chen C. H., Chang C. H., Su C. I., Wang K. C., Wang I. C., Liu H. T., Yu C. M., Hsu K. Y. Classification and analysis of pathology of the long head of the biceps tendon in complete rotator cuff tears. *Chang Gung Medical Journal*, 2012, vol. 35, no. 3, pp. 263–270.
4. Warner J. J., McMahon P. J. The role of the long head of the biceps brachii in superior stability of the glenohumeral joint. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 1995, vol. 77, no. 3, pp. 366–372. <https://doi.org/10.2106/00004623-199503000-00006>
5. Bennett W. F. Arthroscopic repair of anterosuperior (supraspinatus/subscapularis) rotator cuff tears: a prospective cohort with 2- to 4-year followup: classification of biceps subluxation and instability. *Arthroscopy*, 2003, vol. 19, no. 1, pp. 21–33. <https://doi.org/10.1053/jars.2003.50023>
6. Peltz C. D., Perry S. M., Getz Ch. L., Soslowsky L. J. Mechanical properties of the long-head of the biceps tendon are altered in the presence of rotator cuff tears in a rat model. *Journal of Orthopaedic Research*, 2009, vol. 27, no. 3, pp. 416–420. <https://doi.org/10.1002/jor.20770>
7. Edwards T. B., Walch G., Sirveaux F., Molé D., Nové-Josserand L., Boulahia A., Neyton L., Szabo I., Lindgren B. Repair of tears of the subscapularis. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 2005, vol. 87, no. 4, pp. 725–730. <https://doi.org/10.2106/jbjs.d.02051>

8. Alpantaki K. Sympathetic and sensory neural elements in the tendon of the long head of the biceps. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 2005, vol. 87, no. 7, pp. 1580–1583. <https://doi.org/10.2106/jbjs.d.02840>
9. Habermeyer P., Magosch P., Pritsch M., Scheibel M. T., Lichtenberg S. Anterosuperior impingement of the shoulder as a result of pulley lesions: a prospective arthroscopic study. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery*, 2004, vol. 13, no. 1, pp. 5–12. <https://doi.org/10.1016/j.jse.2003.09.013>
10. Walch G., Nové-Josserand L., Boileau P., Levigne Ch. Subluxations and dislocations of the tendon of the long head of the biceps. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery*, 1998, vol. 7, no. 2, pp. 100–108. [https://doi.org/10.1016/s1058-2746\(98\)90218-x](https://doi.org/10.1016/s1058-2746(98)90218-x)
11. Burkhhead W. Z., Habermeyer P., Walch G., Lin K. The biceps tendon. *The shoulder*. 4th ed. Philadelphia, 2009, vol. 2, pp. 1309–1360.
12. Jae Chul Yoo, Iyyampillai G., Park D., Koh K.-H. The influence of bicipital groove morphology on the stability of the long head of the biceps tendon. *Journal of Orthopaedic Surgery*, 2017, vol. 25, no. 2, 7 p. <https://doi.org/10.1177/2309499017717195>
13. Mizrahi D. J., Averill L. W., Blumer S. L., Meyers A. B. Chronic lesser tuberosity avulsion in an adolescent with an associated biceps pulley injury. *Pediatric Radiology*, 2017, vol. 48, no. 5, pp. 749–753. <https://doi.org/10.1007/s00247-017-4016-5>
14. Lafosse L., Reiland Y., Baier G. P., Toussaint B., Jost B. Anterior and posterior instability of the long head of the biceps tendon in rotator cuff tears: a new classification based on arthroscopic observations. *Arthroscopy*, 2007, vol. 23, no. 1, pp. 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2006.08.025>
15. Aydemir A. N., Ergün S., Berkem L., Poyanlı O. Ş., Esenkaya İ., Akan H. K. Results of biceps tenotomy in the treatment of shoulder impingement and rotator cuff tears. *Medical Journal of Bakirkoy*, 2015, vol. 11, no. 2, pp. 74–81.
16. Nho S. J., Reiff S. N., Verma N. N., Slabaugh M. A., Mazzocca A. D., Romeo A. A. Complications associated with subpectoral biceps tenodesis: low rates of incidence following surgery. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery*, 2010, vol. 19, no. 5, pp. 764–768. <https://doi.org/10.1016/j.jse.2010.01.024>

Информация об авторах

Даниленко Олег Анатольевич – канд. мед. наук, заведующий отделением. 6-я городская клиническая больница (ул. Уральская, 5, 220032, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: danilenkooa@gmail.com

Макаревич Евгений Реональдович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь)

Сердюченко Николай Сергеевич – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, академик-секретарь Отделения медицинских наук НАН Беларуси (Президиум НАН Беларуси (пр. Скорины, 66, 220072, г. Минск, Республика Беларусь)

Леонард Сергей Владимирович – врач-травматолог. Брестская городская больница скорой медицинской помощи (ул. Ленина, 15, 224005, г. Брест, Республика Беларусь)

Information about the authors

Oleg A. Danilenko – Ph. D. (Med.), Head of the Department. 6th City Clinical Hospital (5, Uralskaya Str., 220032, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: danilenkooa@gmail.com

Evgenii R. Makarevich – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskiy Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus)

Nikolai S. Serdiuchenko – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Academician-Secretary of the Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus (Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus)

Leonard Sergei V. – Traumatologist. Brest City Emergency Hospital (Lenin Str., 15, 224005, Brest, Republic of Belarus)

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.12-008.318:616.12-005.4-036.12+616.24-008.444

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-286-292>

Поступила в редакцию 18.10.2017

Received 18.10.2017

А. Г. Булгак, Е. С. Тарасик

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

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ОБСТРУКТИВНОГО АПНОЭ СНА, ПЕРВИЧНЫМ ХРАПОМ И ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Аннотация. Изучено влияние синдрома обструктивного апноэ сна (СОАС) и первичного храпа на нарушения сердечного ритма и показатели его вариабельности у 65 пациентов (возраст от 40 до 68 лет) с хронической ишемической болезнью сердца (ИБС).

Полученные данные указывают на нарушение симпато-вагусного обеспечения сердечного ритма, а также на склонность к нарушениям ритма сердца у пациентов с ИБС и СОАС. Наличие СОАС приводит к повышению как симпатических, так и парасимпатических влияний вегетативной нервной системы на синусовый узел.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, синдром обструктивного апноэ сна, вариабельность ритма сердца, нарушения ритма сердца

Для цитирования: Булгак, А. Г. Вариабельность сердечного ритма у пациентов с синдромом обструктивного апноэ сна, первичным храпом и ишемической болезнью сердца / А. Г. Булгак, Е. С. Тарасик // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 286–292. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-286-292>

A. Bulgak, E. Tarasik

Republican Scientific and Practical Center "Cardiology", Minsk, Republic of Belarus

HEART RATE VARIABILITY IN PATIENTS WITH OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA SYNDROME, PRIMARY SNORING AND ISCHEMIC HEART DISEASE

Abstract. The purpose of our study is to assess the impact of cardiac arrhythmias, heart rhythm variability in patients with ischemic heart disease, obstructive sleep apnea and primary snoring. 65 patients at an age of 40–68 years with ischemic heart disease, obstructive sleep apnea and primary snoring were researched.

Obstructive sleep apnea and primary snoring lead to an increase in the sympathetic and parasympathetic activity of the autonomic nervous system on the sinus node in patients with ischemic heart disease, obstructive sleep apnea and primary snoring.

Keywords: cardiac arrhythmias, heart rhythm variability, ischemic heart disease, obstructive sleep apnea, primary snoring

For citation: Bulgak A., Tarasik E. Heart rate variability in patients with obstructive sleep apnea syndrome, primary snoring and ischemic heart disease. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 286–292 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-286-292>

Введение. Синдром обструктивного апноэ сна (СОАС) – расстройство, характеризующееся повторяющимися эпизодами обструкции верхних дыхательных путей во время сна, ассоциированными, как правило, с падением уровня насыщения крови кислородом. Главным проявлением синдрома является возникновение во время сна множественных эпизодов апноэ или гипопноэ – полных или неполных остановок дыхания длительностью более 10 с [1].

СОАС достаточно распространен, его встречаемость в популяции составляет около 10–12 % и с возрастом увеличивается [2].

На основании индекса апноэ/гипопноэ (ИАГ), рассчитанного по количеству остановок дыхания в 1 ч, различают три формы тяжести СОАС: легкую – от 5 до 15, умеренную – от 15 до 30 и тяжелую – более 30 эпизодов в час [3].

Нарушения ритма сердца встречаются у пациентов с СОАС достаточно часто. При этом чем тяжелее проявления СОАС, тем выше частота и вероятность появления сердечных аритмий и выше риск внезапной сердечной смерти [4, 5].

По данным А. Gami с соавт. [6], СОАС является независимым фактором риска внезапной смерти, обусловленного количеством остановок дыхания во сне и тяжестью гипоксемии. При этом вероятность внезапной смерти во сне у пациентов с СОАС возрастает в 2,6 раза [5], что подтверждают данные, полученные авторами ранее [7].

Ф. Cintra с соавт. [7] установлено, что у пациентов с выраженными нарушениями дыхания во время сна нарушения ритма наблюдаются в 92 % случаев.

У пациентов с СОАС частота нарушений ритма сердца в ночной период может достигать до 50 % [9–11]. Чаще всего наблюдаются фибрилляция предсердий (ФП), желудочковая экстрасистолия и пробежки желудочковой тахикардии [12–16]. Их характерной особенностью является периодическое повторение и связь с эпизодами апноэ. Наиболее выраженные изменения на электрокардиограмме (ЭКГ) отмечаются на фоне максимального падения уровня кислорода в крови. Восстановление ритма сердца происходит после возобновления дыхания. Относительный риск возникновения нарушений ритма (неустойчивой желудочковой тахикардии) в первые 90 с после эпизода апноэ в 18 раз выше, чем при нормальном дыхании [17].

Известно, что хроническая ишемическая болезнь сердца (ИБС) является одной из основных причин развития нарушений ритма. В основе патогенеза лежат атеросклеротические изменения в ткани миокарда и коронарных артериях, что приводит к нарушению образования и проведения импульса [18].

В доступной нам литературе нет данных о влиянии обструктивного апноэ сна и первичного храпа на нарушения ритма и его вариабельность у пациентов с хронической ИБС.

Цель нашего исследования – оценка влияния синдрома обструктивного апноэ сна и первичного храпа на нарушения сердечного ритма и показатели его вариабельности у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца.

Материалы и методы исследования. В исследовании приняли участие 65 пациентов с ИБС (42 (65 %) мужчины, 23 (35 %) женщины). Средний возраст обследуемых – $56,7 \pm 8,5$ года (минимальный – 40 лет, максимальный – 68 лет). Антропометрические данные пациентов (вес, обхват шеи (ОШ), обхват талии (ОТ), обхват бедер (ОБ)) представлены в таблице.

Антропометрические данные пациентов изучаемых групп
Anthropometric data of patients in the study groups

| Группа | Вес, кг | ОШ, см | ОТ, см | ОБ, см |
|--------|------------------|-----------------|------------------|------------------|
| I | $107,5 \pm 22,4$ | $44,8 \pm 6,7$ | $124,7 \pm 21,8$ | $123,1 \pm 14,7$ |
| II | $99,8 \pm 20,8$ | $42,4 \pm 5,0$ | $118,2 \pm 17,2$ | $115,6 \pm 13,4$ |
| III | $98,6 \pm 13,6$ | $42,2 \pm 13,2$ | $108,7 \pm 13,4$ | $109,3 \pm 14,2$ |

Примечание. Различия по весу, ОШ, ОТ, ОБ между пациентами групп не достоверны ($p > 0,05$).

Все пациенты были проконсультированы у отоларинголога, наличие патологии со стороны ЛОР-органов являлось критерием исключения из исследования.

В соответствии с данными кардиореспираторного мониторинга все пациенты были разделены на группы. I группа включала 23 пациента (лица с ИБС и СОАС) (10 (43 %) – с СОАС средней степени тяжести, 13 (57 %) – с СОАС тяжелой степени); II – 17 (пациенты с ИБС и первичным храпом), III – 25 пациентов с ИБС (лица без СОАС и первичного храпа). Пациенты всех групп были сопоставимы по полу и возрасту.

Диагноз ИБС устанавливали на основании жалоб, анамнеза, данных ЭКГ, эхокардиографии, суточного мониторинга ЭКГ, нагрузочного теста, у ряда пациентов выполнена коронароангиография.

Для кардиореспираторного мониторинга использовали аппарат Somnocheck-2 (Weinmann, Германия), с помощью которого осуществляли мониторинг назофарингеального потока, запись ЭКГ, частоты сердечных сокращений (ЧСС), пульсоксиметрии, плетизмографии, положения тела, торакоабдоминальных движений, звукового феномена храпа. На основании полученных данных рассчитывали ИАГ.

Суточное мониторирование ЭКГ проводили с помощью аппарата Zymed (Phillips, США). Рассчитывали среднюю, минимальную и максимальную ЧСС днем и ночью, отношение средней ЧСС во время бодрствования к средней ЧСС во время сна (циркадный индекс), стандартное отклонение соседних RR-интервалов (SDRR), стандартное отклонение средних RR-интервалов за каждые 5 мин (SDANN 5), корень квадратный из средней суммы квадратов разниц между очередными RR-интервалами (RMSSD).

Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета программ STATISTICA 6,0. Для сравнения средних непрерывных величин с нормальным распределением применяли групповой *t*-тест, для сравнения частот бинарного признака – критерий Фишера. Результаты исследования представлены в виде их средних значений и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. При оценке данных суточного мониторирования ЭКГ достоверных различий по ЧСС (средней, минимальной и максимальной) между пациентами групп не наблюдалось ($p > 0,05$).

В I группе нарушения ритма зафиксированы у 15 (65,2 %) пациентов, из них ФП выявлена у 9 (39,0 %) лиц (у 3 – с СОАС средней степени, у 6 – с СОАС тяжелой степени); желудочковые нарушения ритма – у 4 (17,4 %), наджелудочковые – у 2 (8,7 %) пациентов.

Во II группе нарушения ритма зафиксированы у 2 (12 %) пациентов, из них у одного (6 %) человека наблюдалась фибрилляция предсердий, у другого (6 %) – наджелудочковые нарушения ритма (частая предсердная экстрасистолия).

В III группе суправентрикулярных нарушений ритма не зафиксировано, а желудочковые нарушения ритма наблюдались у 3 (12,0 %) пациентов (рис. 1).

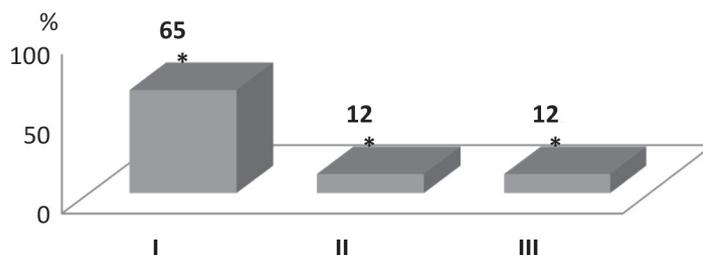


Рис. 1. Частота встречаемости нарушений ритма у пациентов изучаемых групп. * – различия достоверны ($p < 0,05$) между показателями пациентов I и II, I и III групп

Fig. 1. Frequency of occurrence of rhythm disturbances in the patients of the studied groups. * – the differences are significant ($p < 0,05$) between the indices of the patients of groups I and II, groups I and III

При оценке данных суточного мониторирования в I и II группах отмечалось повышение SDRR (до $156,64 \pm 50,8$ и $131,3 \pm 14,7$ мс соответственно) по сравнению с III ($109,98 \pm 23,2$ мс), что указывает на повышение общей активности вегетативной нервной системы пациентов I и II групп (рис. 2).

В I и II группах отмечалось повышение RMSSD (до $61,01 \pm 30,3$ и $48,1 \pm 17,2$ мс соответственно) по сравнению с III ($37,05 \pm 15,8$ мс), что указывает на более выраженный суммарный эффект влияния на синусовый узел парасимпатического звена вегетативной регуляции.

Полученные данные указывают на наличие нарушений симпато-вагусного обеспечения (повышение показателей активности симпатической и парасимпатической нервной системы) сердечного ритма и предрасположенность к нарушениям сердечного ритма у пациентов с ИБС и СОАС, что совпадает с мнением ряда авторов о влиянии СОАС на симпто-вагусную регуляцию [19–23].

Кроме того, в основе возникновения нарушений ритма может лежать несколько механизмов:

1) интермиттирующая гипоксия, ассоциированная с активацией вегетативной нервной системы и развитием окислительного стресса, приводит к изменению кардиомиоцитов, изменению возбудимости и сократимости миокарда [24, 25], а также к гемодинамическим нарушениям обо-

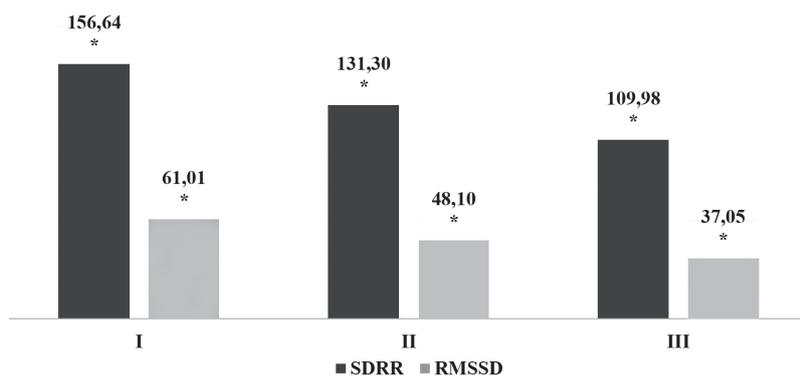


Рис. 2. Показатели вариабельности сердечного ритма (SDRR, RMSSD) у пациентов изучаемых групп. * – различия достоверны ($p < 0,05$) между показателями пациентов I и II, I и III, II и III групп

Fig. 2. Parameters of heart rate variability (SDRR, RMSSD) in the patients of the studied groups. * – the differences are significant ($p < 0.05$) between the indices of the patients of groups I and II, groups I and III, groups II and III

их желудочков [26]. Вызванное гипоксией нарушение наполнения левого желудочка достоверно коррелировало с изменениями геометрии левого предсердия [27]. Поскольку растяжение предсердия традиционно ассоциируется с повышенной предрасположенностью к развитию ФП, авторы предполагают, что острая дилатация левого предсердия может спровоцировать ФП. Согласно результатам исследования, имеет значение не только количество остановок дыхания во сне, но и тяжесть вызываемой ими гипоксемии, которая определяет наличие нарушений ритма у пациентов с СОАС [28];

2) высокая степень гиперкапнии также влияет на электрофизиологию предсердий путем замедления проведения по предсердиям и повышения рефрактерности. После возвращения к состоянию нормакапнии рефрактерность быстро возвращается к нормальному уровню, в то время как замедление проведения сохраняется. В экспериментах на животных электрофизиологические изменения вследствие гиперкапнии были ассоциированы с развитием ФП [29];

3) возрастающее отрицательное внутригрудное давление механически растягивает миокард и внутригрудные вены, что увеличивает возврат крови к сердцу, возрастает объемная нагрузка (центральная псевдогиперволемиа). Повторяясь циклично, эти эпизоды запускают процессы ремоделирования миокарда, провоцируя тем самым нарушения его возбудимости [30]. Свою роль в этом играет активация блуждающего нерва, приводящая к укорочению рефрактерного периода миокарда предсердий и длительности потенциала действия, а также к повышению восприимчивости левого предсердия к возникновению ФП [31].

4) имеют значение и постоянные микропробуждения головного мозга (что с точки зрения физиологии представляет собой хронический стресс), которые приводят к повышенной симпатической активности и коронарной вазоконстрикции [11].

Заключение. Таким образом, установлено, что наличие СОАС у лиц с хронической ИБС достоверно увеличивает количество пациентов с нарушениями ритма сердца.

Разнонаправленность увеличения показателей вариабельности ритма сердца (SDRR, RMSSD) у пациентов с СОАС на фоне хронической ИБС указывает на нарушение симпато-вагусного обеспечения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. The International classification of sleep disorders: diagnostic and coding manual / Diagnostic Classification Steering Committee of the Amer. Sleep Disorders Assoc. [et al.]. – Rochester : Amer. Sleep Disorders Assoc., 1990. – 396 p.
2. Young, T. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population health perspective / T. Young, P. E. Peppard, D. J. Gottlieb // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2002. – Vol. 165, N 9. – P. 1217–1239. <https://doi.org/10.1164/rccm.2109080>
3. Droblich, D. A. National Sleep Foundation's conference summary: the National Summito Prevent Drowsy Drivinganda new call to action / D. A. Droblich // Industrial Health. – 2005. – Vol. 43, N 1. – P. 197–200. <https://doi.org/10.2486/indhealth.43.197>

4. Голубева, А. А. Лечение нарушений сердечного ритма и проводимости при синдроме обструктивного апноэ сна / А. А. Голубева, Г. А. Сильвестрова // *Лечеб. дело.* – 2010. – № 3. – С. 91–96.
5. Day-night pattern of sudden death in obstructive sleep apnea / A. S. Gami [et al.] // *N. Eng. J. Med.* – 2005. – Vol. 352, N 12. – P. 1206–1214. <https://doi.org/10.1056/nejmoa041832>
6. Obstructive sleep apnea and the risk of sudden cardiac death: a longitudinal study of 10,701 adults / A. S. Gami [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2013. – Vol. 62, N 7. – P. 610–616. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.04.080>
7. Obstructive sleep apnea, obesity, and the risk of incident atrial fibrillation / A. S. Gami [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2007. – Vol. 49, N 5. – P. 565–571. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.08.060>
8. Sleep apnea and nocturnal cardiac arrhythmia: a populational study / F. D. Cintra [et al.] // *Arquivos Brasileiros de Cardiologia.* – 2014. – Vol. 103, N 5. – P. 368–374. <https://doi.org/10.5935/abc.20140142>
9. Knoepke, C. Proposed mechanism of cognitive dysfunction in obstructive sleep apnea / C. Knoepke, M. Aloia // *Primary Psychiatry.* – 2009. – Vol. 16, N 10. – P. 51–56.
10. Negative tracheal pressure during obstructive respiratory events promotes atrial fibrillation by vagal activation / D. Linz [et al.] // *Heart Rhythm.* – 2011. – Vol. 8, N 9. – P. 1436–1443. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2011.03.053>
11. Sharma, S. Sleep and metabolism on overview / S. Sharma, M. Kavuru // *Int. J. Endocrinol.* – 2010. – Vol. 2010. – Art. 270832. <https://doi.org/10.1155/2010/270832>
12. Guilleminault, C. Cardiac arrhythmia and conduction disturbances during sleep in 400 patients with sleep apnea syndrome / C. Guilleminault, S. J. Connolly, R. A. Winkle // *Am. J. Cardiol.* – 1983. – Vol. 52, N 5. – P. 490–494. [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(83\)90013-9](https://doi.org/10.1016/0002-9149(83)90013-9)
13. Hoffstein, V. Cardiac arrhythmias, snoring, and sleep apnea / V. Hoffstein, S. Mateika // *Chest.* – 1994. – Vol. 106, N 2. – P. 466–471. <https://doi.org/10.1378/chest.106.2.466>
14. Nocturnal arrhythmias across a spectrum of obstructive and central sleep-disordered breathing in older men: outcomes of sleep disorders in older men (MrOS sleep) study / R. Mehra [et al.] // *Arch. of Int. Med.* – 2009. – Vol. 169, N 12. – P. 1147–1155. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2009.138>
15. Ramos-Mondragón, R. Long-term modulation of Na⁺ and K⁺ channels by TGF-β1 in neonatal rat cardiac myocytes / R. Ramos-Mondragón, A. V. Vega, G. Avila // *Pflügers Archiv – Eur. J. Physiol.* – 2011. – Vol. 461, N 2. – P. 235–247. <https://doi.org/10.1007/s00424-010-0912-3>
16. Resistant hypertension and obstructive sleep apnea: the sparring partners / C. Thomopoulos [et al.] // *Int. J. Hypertension.* – 2011. – Vol. 2011. – Art. 947246. <https://doi.org/10.4061/2011/947246>
17. Miller, W. P. Cardiac arrhythmias and conduction disturbances in the sleep apnea syndrome. Prevalence and significance / W. P. Miller // *Am. J. Med.* – 1982. – Vol. 73, N 3. – P. 317–321. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(82\)90716-1](https://doi.org/10.1016/0002-9343(82)90716-1)
18. Горбачев, В. В. Ишемическая болезнь сердца : учеб. пособие / В. В. Горбачев. – Минск : Вышэйш. шк., 2008. – 478 с.
19. Cardiac autonomic control in obstructive sleep apnea / N. Gammoudi [et al.] // *Libyan J. Med.* – 2015. – Vol. 10, N 1. – Art. 26989. <https://doi.org/10.3402/ljm.v10.26989>
20. Effect of mild, asymptomatic obstructive sleep apnea on daytime heart rate variability and impedance cardiography measurements / J. S. Balachandran [et al.] // *Am. J. Cardiol.* – 2012. – Vol. 109, N 1. – P. 140–145. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2011.07.071>
21. Relationship of heart rate variability to sleepiness in patients with obstructive sleep apnea with and without heart failure / L. T. Montemurro [et al.] // *J. Clin. Sleep Med.* – 2014. – Vol. 10, N 3. – P. 271–276. <https://doi.org/10.5664/jcsm.3526>
22. Overnight heart rate variability in patients with obstructive sleep apnoea: a time and frequency domain study / K. Zhu [et al.] // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2012. – Vol. 39, N 11. – P. 901–908. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12012>
23. Heart rate variability in obstructive sleep apnoea / S. Jagannathan [et al.] // *Int. J. Biomed. Adv. Res.* – 2013. – Vol. 4, N 6. – P. 420–424. <https://doi.org/10.7439/ijbar.v4i6.398>
24. Синдром апноэ во сне и другие расстройства дыхания, связанные со сном: клиника, диагностика, лечение / А. М. Вейн [и др.]. – М. : Эйдос Медиа, 2002. – 308 с.
25. Sleep-disordered breathing and cardiac arrhythmias / T. Bitter [et al.] // *Can. J. Cardiol.* – 2015. – Vol. 31, N 7. – P. 928–934. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2015.04.022>
26. Association of obstructive sleep apnea with urinary albumin excretion in essential hypertension: a cross-sectional study / C. Tsioufis [et al.] // *Am. J. Kidney Dis.* – 2008. – Vol. 52, N 2. – P. 285–293. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2008.05.001>
27. Determinants of atrial fibrillation in an animal model of obesity and acute obstructive sleep apnea / Y.-K. Iwasaki [et al.] // *Heart Rhythm.* – 2012. – Vol. 9, N 9. – P. 1409–1416.e1. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2012.03.024>
28. Пальман, А. Д. Нарушения ритма сердца у больных с синдромом обструктивного апноэ во сне / А. Д. Пальман, А. Ш. Думикян, Е. В. Хмелькова // *Актуальные проблемы сомнологии : тез. докл. 2-й Всерос. конф., 23–24 нояб. 2000 г., г. Москва / М-во здравоохранения Рос. Федерации [и др.].* – М., 2000. – С. 70.
29. Effect of continuous positive airway pressure treatment on serum cardiovascular risk factors in patient with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome / P. Steiropoulos [et al.] // *Chest.* – 2007. – Vol. 132, N 3. – P. 843–851. <https://doi.org/10.1378/chest.07-0074>
30. Chan, K. H. Obstructive sleep apnea: novel trigger and potential therapeutic target for cardiac arrhythmias / K. H. Chan, I. Wilcox // *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.* – 2010. – Vol. 8, N 7. – P. 981–994. <https://doi.org/10.1586/erc.10.80>
31. Lindberg, E. Epidemiology of OSA / E. Lindberg // *Sleep Apnoea* / ed. : W. T. McNicholas, M. R. Bonsignore. – Sheffield, 2010. – P. 51–68.

References

1. *The International classification of sleep disorders: diagnostic and coding manual*. Rochester, American Sleep Disorders Association, 1990. 396 p.
2. Young T., Peppard P. E., Gottlieb D. J. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population health perspective. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2002, vol. 165, no. 9, pp. 1217–1239. <https://doi.org/10.1164/rccm.2109080>
3. Drobnič D. A. National Sleep Foundation's conference summary: the National Summit to Prevent Drowsy Driving—a new call to action. *Industrial Health*, 2005, vol. 43, no. 1, pp. 197–200. <https://doi.org/10.2486/indhealth.43.197>
4. Golubeva A. A., Sil'vestrova G. A. Treatment of cardiac arrhythmias and conduction abnormalities in obstructive sleep apnoea. *Lechebnoe delo [Therapeutics]*, 2010, no. 3, pp. 91–96 (in Russian).
5. Gami A. S., Howard D. E., Olson E. J., Somers V. K. Day-night pattern of sudden death in obstructive sleep apnea. *New England Journal of Medicine*, 2005, vol. 352, no. 12, pp. 1206–1214. <https://doi.org/10.1056/nejmoa041832>
6. Gami A. S., Olson E. J., Shen W. K., Wright R. S., Ballman K. V., Hodge D. O., Herges R. M., Howard D. E., Somers V. K. Obstructive sleep apnea and the risk of sudden cardiac death: a longitudinal study of 10,701 adults. *Journal of the American College of Cardiology*, 2013, vol. 62, no. 7, pp. 610–616. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.04.080>
7. Gami A. S., Hodge D. O., Herges R. M., Olson E. J., Nykodym J., Kara T., Somers V. K. Obstructive sleep apnea, obesity, and the risk of incident atrial fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology*, 2007, vol. 49, no. 5, pp. 565–571. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.08.060>
8. Cintra F. D., Leite R. P., Storti, L. J. Bittencourt L. A., Poyares D., Castro L. S., Tufik S., de Paola A. Sleep apnea and nocturnal cardiac arrhythmia: a populational study. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 2014, vol. 103, no. 5, pp. 368–374. <https://doi.org/10.5935/abc.20140142>
9. Knoepke C. A., Aloia M. Proposed mechanism of cognitive dysfunction in obstructive sleep apnea. *Primary Psychiatry*, 2009, vol. 16, no. 10, pp. 51–56.
10. Linz D., Schotten U., Neuberger H.-R., Böhm M., Wirth K. Negative tracheal pressure during obstructive respiratory events promotes atrial fibrillation by vagal activation. *Heart Rhythm*, 2011, vol. 8, no. 9, pp. 1436–1443. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2011.03.053>
11. Sharma S., Kavuru M. Sleep and metabolism on overview. *International Journal of Endocrinology*, 2010, vol. 2010, art. 270832. <https://doi.org/10.1155/2010/270832>
12. Guilleminault C., Connolly S. J., Winkle R. A. Cardiac arrhythmia and conduction disturbances during sleep in 400 patients with sleep apnea syndrome. *American Journal of Cardiology*, 1983, vol. 52, no. 5, pp. 490–494. [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(83\)90013-9](https://doi.org/10.1016/0002-9149(83)90013-9)
13. Hoffstein V., Mateika S. Cardiac arrhythmias, snoring, and sleep apnea. *Chest*, 1994, vol. 106, no. 2, pp. 466–471. <https://doi.org/10.1378/chest.106.2.466>
14. Mehra R., Stone K. L., Varosy P. D., Hoffman A. R., Marcus G. M., Blackwell T., Ibrahim O. A., Salem R., Redline S. Nocturnal arrhythmias across a spectrum of obstructive and central sleep-disordered breathing in older men: outcomes of sleep disorders in older men (MrOS sleep) study. *Archives of Internal Medicine*, 2009, vol. 169, no. 12, pp. 1147–1155. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2009.138>
15. Ramos-Mondragón R., Vega A. V., Avila G. Long-term modulation of Na⁺ and K⁺ channels by TGF-β1 in neonatal rat cardiac myocytes. *Pflügers Archiv – European Journal of Physiology*, 2011, vol. 461 no. 2, pp. 235–247. <https://doi.org/10.1007/s00424-010-0912-3>
16. Thomopoulos C., Michalopoulou H., Kasiakogias A., Kefala A., Makris T. Resistant hypertension and obstructive sleep apnea: the sparring partners. *International Journal of Hypertension*, 2011, vol. 2011, art. 947246. <https://doi.org/10.4061/2011/947246>
17. Miller W. P. Cardiac arrhythmias and conduction disturbances in the sleep apnea syndrome. Prevalence and significance. *American Journal of Medicine*, 1982, vol. 73, no. 3, pp. 317–321. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(82\)90716-1](https://doi.org/10.1016/0002-9343(82)90716-1)
18. Gorbachev V. V. *Ischemic heart disease*. Minsk, Vysheishaya shkola Publ., 2008. 478 p. (in Russian).
19. Gammoudi N., Cheikh R. B., Saafi M. A., Sakly G., Dogui M. Cardiac autonomic control in obstructive sleep apnea. *Libyan Journal of Medicine*, 2015, vol. 10, no. 1, art. 26989. <https://doi.org/10.3402/ljm.v10.26989>
20. Balachandran J. S., Bakker J. P., Rahangdale S., Yim-Yeh S., Mietus J.-E., Goldberger A. L., Malhotra A. Effect of mild, asymptomatic obstructive sleep apnea on daytime heart rate variability and impedance cardiography measurements. *American Journal of Cardiology*, 2012, vol. 109, no. 1, pp. 140–145. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2011.07.071>
21. Montemurro L. T., Floras J. S., Picton P., Kasai T., Alshaer H., Gabriel J. M., Bradley T. D. Relationship of heart rate variability to sleepiness in patients with obstructive sleep apnea with and without heart failure. *Journal Clinical Sleep Medicine*, 2014, vol. 10, no. 3, pp. 271–276. <https://doi.org/10.5664/jcsm.3526>
22. Zhu K., Chemla D., Roisman G., Mao W., Bazizi S., Lefevre A., Escourrou P. Overnight heart rate variability in patients with obstructive sleep apnoea: a time and frequency domain study. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2012, no. 39, pp. 901–908. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12012>
23. Jagannathan S., D'cruz S. M., Selvakumar V., Badanidiyur V. R. Heart rate variability in obstructive sleep apnoea. *International Journal of Biomedical and Advance Research*, 2013, vol. 4, no. 6, pp. 420–424. <https://doi.org/10.7439/ijbar.v4i6.398>
24. Vein A. M., Eligulashvili T. S., Poluektov M. G., Kalinkin A. L., Pal'man A. D. *Apnoea in a dream and other disorders of breath connected with a dream: clinic, diagnostics, treatment*. Moscow, Eidos Media, 2002. 308 p. (in Russian).

25. Bitter T., Fox H., Gaddam S., Horstkotte D., Oldenburg O. Sleep-disordered breathing and cardiac arrhythmias. *Canadian Journal of Cardiology*, 2015, vol. 31, no. 7, pp. 928–934. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2015.04.022>

26. Tsioufis C., Thomopoulos C., Dimitriadis K., Amfilochiou A., Tsiachris D., Selima M., Petras D., Kallikazaros I., Stefanadis C. Association of obstructive sleep apnea with urinary albumin excretion in essential hypertension: a cross-sectional study. *American Journal of Kidney Diseases*, 2008, vol. 52, no. 2, pp. 285–293. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2008.05.001>

27. Iwasaki Y.-K., Shi Y., Benito B., Gillis M.-A., Mizuno K., Tardif J.-C., Nattel S. Determinants of atrial fibrillation in an animal model of obesity and acute obstructive sleep apnea. *Heart Rhythm*, 2012, vol. 9, no. 9, pp. 1409–1416.e1. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2012.03.024>

28. Pal'man A. D., Dumikyan A. Sh., Khmel'kova E. V. Heart rate disturbances in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Aktual'nye problemy somnologii: tezisy dokladov 2-i Vserossiiskoi konferentsii (23–24 noyabrya 2000 g., Moskva)* [Modern problems of somnology: abstracts of the 2nd Russian conference (23–24 November 2000, Moscow)]. Moscow, 2000, p. 70 (in Russian).

29. Steiropoulos P., Tsara V., Nena E., Fiteli C., Kataropoulou M., Froudarakis M., Christaki P., Bouros D. Effect of continuous positive airway pressure treatment on serum cardiovascular risk factors in patient with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Chest*, 2007, vol. 132, no. 3, pp. 843–851. <https://doi.org/10.1378/chest.07-0074>

30. Chan K. H., Wilcox I. Obstructive sleep apnea: novel trigger and potential therapeutic target for cardiac arrhythmias. *Journal Expert Review of Cardiovascular Therapy*, 2010, vol. 8, no. 7, pp. 981–994. <https://doi.org/10.1586/erc.10.80>

31. Lindberg E. Epidemiology of OSA. *Sleep Apnoea*. Sheffield, 2010. P. 51–68.

Информация об авторах

Булгак Александр Григорьевич – д-р мед. наук, профессор, зам. директора. Республиканский научно-практический центр «Кардиология» (ул. Р. Люксембург, 110В, 220036, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: bulag@mail.ru

Тарасик Екатерина Сергеевна – врач-кардиолог. Республиканский научно-практический центр «Кардиология» (ул. Р. Люксембург, 110В, 220036, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: katerinatarasik@mail.ru

Information about the authors

Alexander G. Bulgak – D. Sc. (Med.), Professor, Deputy Director. Republican Scientific and Practical Center “Cardiology” (110B, R. Luxemburg Str., 220036, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: bulag@mail.ru

Ekaterina S. Tarasik – cardiologist. Republican Scientific and Practical Center “Cardiology” (110B, R. Luxemburg Str., 220036, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: katerinatarasik@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 612.616.6+591.463:615.25+615.31:[661.888.1+661.866.2]
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-293-305>

Поступила в редакцию 20.11.2017
Received 20.11.2017

**И. О. Белкина¹, Н. А. Карпенко¹, Е. М. Коренева¹, Н. П. Смоленко¹,
Э. Е. Чистякова¹, В. К. Клочков²**

¹*Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины, Харьков, Украина*

²*Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины, Харьков, Украина*

КОРРЕКЦИЯ РАССТРОЙСТВ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ САМЦОВ КРЫС С ПОМОЩЬЮ НАНОЧАСТИЦ ОРТОВАНАДАТА ГАДОЛИНИЯ

Аннотация. Установлено, что самцы крыс, которые в неонатальный период (с 3-х по 22-е сутки жизни) испытывали эмоциональный стресс и получали избыточное количество фитоэстрогенов с молоком матери, в 10-месячном возрасте имеют избыточную массу тела, что обусловлено увеличением массы висцерального жира, изменением белкового обмена и проатерогенными изменениями липидного обмена (повышением уровня общего холестерина и триглицеридов), нарушением про/антиоксидантного баланса. Кроме того, у этих самцов отмечался сниженный уровень тестостерона и имелись нарушения сперматогенеза (меньше общая концентрация сперматозоидов и меньшая концентрация морфологически нормальных гамет), проявляющиеся в образовании дефектных сперматозоидов. Обнаружены также нарушения полового поведения и снижение способности к оплодотворению самок. При наступлении беременности у самок более чем в 2 раза увеличивались общие внутриутробные потери. Вследствие таких изменений показатель репродуктивного потенциала (F_1) у самцов был снижен вдвое по сравнению с контрольным уровнем.

Исследована эффективность применения наночастиц ортованадата гадолиния, активированных европием (НЧ $GdVO_4:Eu^{3+}$), в составе гидрозоля или фармакологической композиции (в дозе 0,33 мг/кг массы тела в течение 70 сут) для коррекции расстройств мужской репродуктивной функции. В качестве референтных изучены препараты трибестан в дозе 68 мг/кг и спеман в дозе 168 мг/кг. Положительное влияние НЧ $GdVO_4:Eu^{3+}$ на репродуктивную функцию самцов крыс с экспериментальной репродуктопатией, проявляющееся в нормализации сперматогенеза, уровня тестостерона, содержания триглицеридов, общего холестерина, аргинина в сыворотке крови, активности аланинаминотрансферазы в печени, фертильности и плодовитости, уменьшении эмбриональной смертности способствовало нормализации расчетного показателя репродуктивного потенциала. Увеличение массы гипофиза и повышение гонадотропной активности гипофизов самцов, получавших НЧ $GdVO_4:Eu^{3+}$, может указывать на возможное действие НЧ на центральный механизм регуляции репродуктивной функции. Несколько большая биологическая активность НЧ в составе гидрозоля может объясняться введением в состав фармакологической композиции вспомогательных веществ, влияющих на физико-химические свойства НЧ и их биологическую активность.

Ключевые слова: гипофертильность, сперматозоиды, репродуктивная функция, самцы крыс, неонатальный стресс, фитоэстрогены, наночастицы, ортованадат гадолиния

Для цитирования: Коррекция расстройств репродуктивной функции самцов крыс с помощью наночастиц ортованадата гадолиния / И. О. Белкина [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 293–305. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-293-305>

I. O. Belkina¹, N. A. Karpenko¹, E. M. Koreneva¹, N. P. Smolenko¹, E. E. Chistyakova¹, V. K. Klochkov²

¹*V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine*

²*Institute for Scintillation Materials of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine*

CORRECTION OF DISORDERS OF THE REPRODUCTIVE FUNCTION OF MALE RATS USING GADOLINIUM ORTHOVANADATE NANOPARTICLES

Abstract. Male rats were exposed to emotional stress and had an excessive amount of phytoestrogens with the mother's milk (from 3 to 22 days of life) and were examined at an age of 10 months. Animals had an excess body weight through an increased weight of visceral fat, changes in protein and lipid metabolism (increased total cholesterol and triglycerides), impaired pro/antioxidant balance. These males had a decreased level of testosterone and impaired spermatogenesis (less total sperm concentration and less concentration of morphologically normal gametes) with the formation of defective spermatozoa. Also, the violations of the sexual behavior and the worst fertilization of females were found. More than a two-fold increase of intrauterine losses in these pregnant females was noted. Due to such changes, the reproductive potential (F_1) in these males was reduced by half compared to the control level.

The effectiveness of application of gadolinium orthovanadate nanoparticles activated by europium (NPs $GdVO_4:Eu^{3+}$), as part of a hydrogel or a pharmacological composition (0.33 mg/kg of body mass, 70 days) for correction of male reproductive

function disorders was studied. As reference preparations, tribestane (68 mg/kg) or spemane (168 mg/kg) was used. After the treatment, the results of spermatogenesis, testosterone production and fertility of the main group of males became better. Due to the reduction of embryonic losses, the reproductive potential index was normalized. NPs normalized the level of triglycerides, total cholesterol, arginine in the serum, as well as the transaminase activity in the liver. An increase in the weight and gonadotropic activity of hypophysis of the treated males were found, indicating a possible effect of NPs on the central regulatory mechanism of the reproductive function. The higher biological activity of NPs in the hydrosol composition was found, which can be explained by the introduction of auxiliary substances into the pharmacological composition that affects the physicochemical properties of NPs $GdVO_4:Eu^{3+}$ and their biological activity.

Keywords: hypofertility, reproductive function, spermatozoa, male rats, neonatal stress, phytoestrogens, nanoparticles, gadolinium orthovanadate

For citation: Belkina I. O., Karpenko N. A., Koreneva E. M., Smolenco N. P., Chistyakova E. E., Klochkov V. K. Correction of disorders of the reproductive function of male rats using gadolinium orthovanadate nanoparticles. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 293–305 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-293-305>

Введение. Одной из актуальнейших проблем во многих странах является ухудшение репродуктивного здоровья населения и связанные с этим процессы депопуляции. По современным данным, бесплодие обнаруживается у 15 % супружеских пар. Мужской фактор становится причиной супружеского бесплодия примерно в 30 % случаев, из которых 30–50 % приходится на идиопатическое бесплодие [1]. Причины нарушения репродуктивной функции мужчин носят как эндогенный (генетические, эндокринные, инфекционные, метаболические, иммунные расстройства), так и экзогенный (факторы окружающей среды, образ жизни) характер. При этом эти факторы могут снижать фертильность, выступая изолированно, или усиливать действие друг друга [2]. Одной из причин идиопатической гипофертильности может быть неблагоприятное воздействие повреждающих факторов в неонатальный период развития, что нарушает программу нормального функционирования репродуктивной системы во взрослом возрасте [3]. В таком случае лечение часто эмпирическое, а традиционные препараты для коррекции расстройств репродуктивного здоровья не всегда приносят нужный результат [4]. Все это обуславливает актуальность поиска эффективных лечебных средств на основе новейших технологий.

Одним из многообещающих направлений является применение наноматериалов, так как при переходе этих соединений в наноформу они способны приобретать новые свойства и изменять биодоступность, проникать через гематоэнцефалический и гематотестикулярный барьеры [5]. Наночастицы (НЧ) могут оказывать не только антиоксидантное, но и прооксидантное действие, поэтому их влияние на репродуктивную функцию может быть как благоприятным, так и негативным. Так, при поступлении в организм ряда НЧ, преимущественно металлов, наблюдается повреждение половых клеток [6]. В то же время обнаружены и положительные эффекты, что, по-видимому, зависит от природы НЧ, их формы и размера (формфактора), дозы и окружения [7]. Известно, что при действии НЧ отмечаются повышение уровня тестостерона (Тс), активация сперматогенеза, улучшение фертильности [8–11]. Гидратированные НЧ C_{60} фуллерена оказывают протективное действие на репродуктивную функцию мышей со стрептозотоциновым диабетом [12]. НЧ ортованадата гадолия ($GdVO_4$), полученные в Институте сцинтилляционных материалов НАН Украины, оказали положительное влияние на репродуктивную функцию крыс с возрастной патологией половой функции, стимулируя стероидогенез и сперматогенез [13].

Стабильные соединения гадолия считают безопасными для человека и используют преимущественно в качестве магнитно-резонансных контрастных препаратов, выступающих как радиосенсибилизаторы при проведении лучевой терапии онкологических заболеваний [14, 15].

Ванадий принимает участие в процессах роста и развития клеток, в регуляции углеводного и липидного обмена, обладает инсулиномиметическим действием. При этом на состоянии репродуктивной системы может сказываться как его недостаточность, так и его избыточное количество [16, 17].

Поскольку инсулин участвует в регуляции репродуктивной функции, влияя на секрецию гонадотропинов, синтез секс-стероид связывающего глобулина, гаметогенез, капацитацию и подвижность сперматозоидов [18–20], а соединения ванадия проявляют инсулиноподобное действие, предполагается, что применение НЧ $GdVO_4:Eu^{3+}$ позволит корректировать репродуктивные расстройства.

Цель работы – определение эффективности коррекции расстройств мужской репродуктивной функции, возникших вследствие неонатального стрессирования на фоне фитоэстрогенизации, с помощью НЧ $GdVO_4:Eu^{3+}$ в виде водного геля (субстанции) или в составе фармацевтической композиции.

Материалы и методы исследования. НЧ ортованадата гадолиния, активированного европием ($GdVO_4:Eu^{3+}$), получали по описанной ранее методике [21], используя в качестве стабилизирующего агента динатриевую соль этилендиамина тетрауксусной кислоты. Коллоидные водные системы бесцветны, прозрачны в проходящем свете и опалесцируют. Коллоидный характер растворов подтверждается наличием конуса рассеивания Тиндаля. Коллоидные частицы растворов легко проходят через ультрафильтр из нитроцеллюлозы (диаметр пор 100 нм), имеют стержнеобразную форму, размер 8×25 нм. При хранении при комнатной температуре растворы (рН 7,2–7,8) не меняют своих физико-химических свойств больше 2 мес. и пригодны для биологических исследований.

Исследования проводили в соответствии с национальными «Общими этическими принципами экспериментов на животных» (Украина, 2001), руководствуясь положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985). В экспериментах использовали самцов и самок крыс популяции Вистар, которые содержались в стандартных условиях вивария при комнатной температуре, естественном освещении, на рекомендованном для них рационе и имели свободный доступ к воде [22].

Для исследования эффективности НЧ $GdVO_4:Eu^{3+}$ для коррекции расстройств мужской репродуктивной функции воспроизводили модель неонатально индуцированной репродуктопатии. Крысят, рожденных от интактных родителей, с 3-х по 15-е сутки жизни подвергали эмоциональному стрессированию путем отсадки самки-матери на 15 мин в клетку, где до этого находились «чужие» самцы (модель *maternal separation stress*), в это же время крысят выкладывали по одному на чистую подстилку (модель *clean bedding*). Фитоэстрогенизацию крысят на фоне эмоционального стресса проводили путем добавления в рацион матери с 3-х по 21-е сутки после родов смеси фитоэстрогенов (ФЭ) в дозе 100 мг/кг [23].

По достижении 10-месячного возраста самцы в течение 70 сут перорально натошак получали НЧ $GdVO_4:Eu^{3+}$ в составе водного геля (субстанция (рис. 1), группа Стресс + ФЭ + НЧ-с) или жидкой фармакологической композиции¹ (группа Стресс + ФЭ + НЧ-ф.к) в дозе 0,33 мг/кг массы тела, или референтные препараты трибестан в дозе 68 мг/кг массы тела (группа Стресс + ФЭ + трибестан) или спеман в дозе 168 мг/кг массы тела (группа Стресс + ФЭ + спеман). Индивидуальную дозу корректировали еженедельно в соответствии с динамикой массы тела. Контрольными считали результаты, полученные у интактных животных соответствующего возраста (группа Контроль).

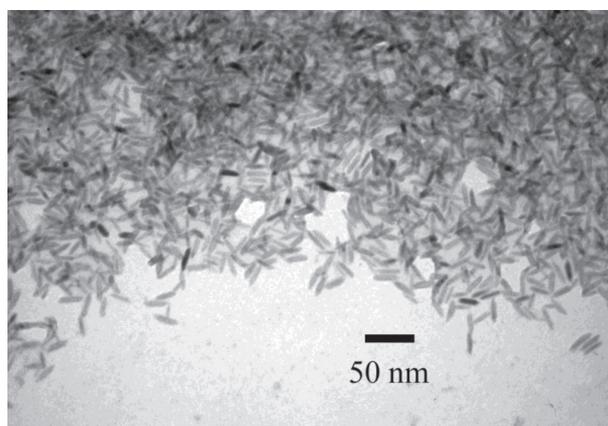


Рис. 1. Микрофото водного раствора НЧ $GdVO_4:Eu^{3+}$. $\times 150$

Fig. 1. Photomicrograph of an aqueous solution of low-frequency $GdVO_4:Eu^{3+}$. $\times 150$

¹ Состав фармакологической композиции находится на патентовании.

После формирования у самцов полового опыта в сумеречное время в течение 15 мин исследовали половое поведение в парных тестах с овариэктомированной рецептивной самкой по временным и количественным показателям садок, интромиссий и эякуляций, рассчитывали продолжительность постэякуляторного рефрактерного периода [24].

Оценивали фертильность самцов по результатам спаривания с интактными здоровыми самками в течение 8 сут, рассчитывали индексы оплодотворения и беременности. Определяли показатели, характеризующие протекание беременности: уровень предимплантационных, постимплантационных и суммарных внутриутробных потерь у беременных самок, число желтых тел, мест имплантации, количество, пол, массу, длину плодов [24]. Кроме того, оценивали репродуктивный потенциал самцов по величине расчетного показателя средней реализованной плодовитости (фертильности) самцов (Φ_i) по формуле

$$\Phi_i \pm S_{\Phi_i} = \frac{N_2 N_3 (N_4 \pm S_{N_4})}{N_1 N_1} = \frac{N_2 N_3 N_4}{N_1 N_1} \pm \frac{N_2 N_3 S_{N_4}}{N_1 N_1},$$

где N_1 – количество самок в группе; N_2 – количество оплодотворенных самок; N_3 – количество беременных самок; N_4 – среднее количество плодов у самки; S_{N_4} – ошибка среднего арифметического количества плодов у самки [25].

Животных выводили из эксперимента путем быстрой декапитации, на аутопсии проводили визуальный осмотр внутренних органов, определяли их массу и массу висцерального жира (сумма гонадального, почечного и мезентериального жира). Состояние сперматогенеза исследовали с помощью микроскопа «Биолам», определяя с помощью камеры Горяева концентрацию эпидидимальных спермиев, их подвижность и относительное содержание патологических форм. Подвижность гамет выражали как процент подвижных клеток на 200 спермиев, процент аномальных форм определяли после осмотра 200 клеток. Функциональную полноценность сперматозоидов оценивали по их осмотической резистентности (в условных единицах, соответствующих концентрации раствора NaCl, при которой прекращается движение клеток), продолжительности их движения и процентному содержанию мертвых сперматозоидов. Рассчитывали концентрацию морфологически нормальных половых клеток (C_N) по формуле

$$C_N = C \frac{100 - PF}{100},$$

где C – концентрация эпидидимальных сперматозоидов, млн/мл; PF – патологические формы, % [23, 24].

Концентрацию общего Тс и эстрадиола в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с помощью тест-наборов фирмы «ХЕМА» (Россия) и иммуноферментного анализатора Stat Fax 2100. Используя глюкозооксидазный метод, с помощью глюкометра «Эксан-Г» оценивали уровень глюкозы в цельной крови, которую получали из хвоста. С помощью наборов «Спайн-Лаб» (Украина) спектрофотометрически определяли содержание триглицеридов (ТГ) и общего холестерина (ОХ), активность аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) («Филисит-Диагностика», Украина), концентрацию свободного аргинина и стабильных метаболитов цикла оксида азота (NOx) в сыворотке крови и в 10 %-ном гомогенате (в 0,9 %-ном растворе NaCl) семенников и печени самцов крыс [26]. Общую гонадотропную активность определяли методом биологического тестирования суспензии гипофизов крыс [27].

Данные представлены как среднее арифметическое (\bar{x}) и его погрешность ($\pm S_x$). Разницу между группами оценивали с помощью множественных сравнений с использованием Q -критерия Данна и U -критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. У самцов крыс, которые в неонатальный период подвергались стрессированию и фитоэстрогенизации, в 5 раз уменьшалось количество эякуляций ($0,14 \pm 0,10$ случаев) по сравнению с контролем ($0,75 \pm 0,18$), $p < 0,05$) и на 41 % сократился их латентный период (до $430,0 \pm 60,0$ с по сравнению с $733,1 \pm 47,3$ с в контроле, $p < 0,05$). Конечного звена поло-

вого поведіння (еякуляції) досягали 14 % живих тварин, що говорить про зміни в регуляції на периферическом рівні.

Нарушення сперматогенезу у цих крыс виражалося в зменшенні в 1,6 рази концентрації сперматозоїдів і збільшенні в 1,8 рази кількості мертвих сперміїв, що сказувалося на зменшенні кількості нормальних сперматозоїдів (в 1,6 рази, $p < 0,05$) (рис. 2). Ці результати стосуються с даними про зниження T_c в сировотці в 1,4 рази ($p < 0,05$, табл. 1), указує на можливий дефіцит T_c (ведь цей андроген дуже необхідний для підтримки сперматогенезу, особливо якісних показувачів сперматозоїдів [28]), або свідчать про порушення регуляції на центральному рівні внаслідок погіршення гонадотропної стимуляції і зменшення концентрації фолікулостимулюючого (ФСГ) і лютеїнізуючого гормонів. Останнє обумовлено тим, що рівень ФСГ грає центральну роль в стимуляції сперматогенезу, формуючи його кількісну сторону [29]. Таким чином, у дорослих тварин цієї групи були суттєві порушення копулятивної і сперматогенної функцій.

Подібні результати отримані як при стресуванні, так і при введенні ФЭ в ранній період розвитку. Погіршення статевих поведінки, сперматогенезу, зниження рівня T_c , підвищення маси тіла на фоні зниження рівня ФСГ у дорослих самців крыс після введення ФЭ зв'язували з впливом ФЭ на морфологію статевиморфних областей мозку і їх здатність змінювати експресію рецепторів гормонів і нейротрансмітерів в цих областях [30, 31]. Емоційне стресування в ранньому постнатальному віці може сказуватися на змінах в структурах мозку, гормональній активності, приводячи до погіршення статевих і соціального поведінки, зниженню кількості сперматозоїдів в дорослому віці [32, 33].

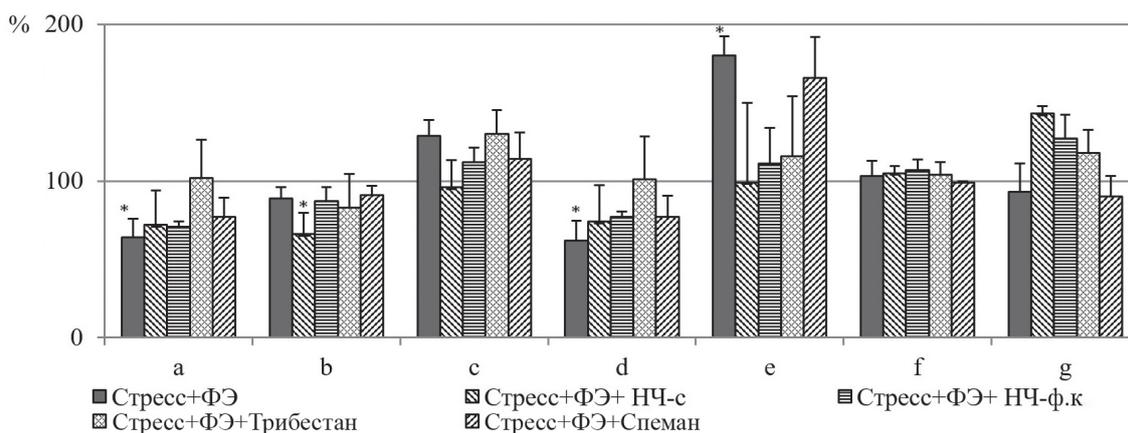


Рис. 2. Показатели спермограммы самцов крыс, подвергшихся неонатальному вмешательству и получавших коррекционную терапию в течение 70 сут, %: *a* – концентрация сперматозоидов, млн/мл; *b* – подвижные формы, %; *c* – патологические формы, %; *d* – концентрация морфологически нормальных сперматозоидов, млн/мл; *e* – мертвые формы, %; *f* – осмотическая резистентность, усл. ед.; *g* – продолжительность движения, мин; * – статистически значимые отличия от данных группы Контроль (данные группы Контроль приняты за 100 %), $p < 0,05$

Fig. 2. Indicators of the spermogram of male rats subjected to neonatal intervention and received corrective therapy for 70 days, %: *a* – sperm concentration, mln/ml; *b* – mobile forms, %; *c* – pathological forms, %; *d* – concentration of morphologically normal spermatozoa, mln/ml; *e* – dead forms, %; *f* – osmotic resistance, conventional units; *g* – duration of movement, min; * – statistically significant differences from the data of the control group (the data of the control group are taken as 100 %), $p < 0.05$

Гипофертильність у чоловіків часто асоційована з метаболічним синдромом і ожирінням [34]. Відомо, що діяння небагатоприятних факторів в час критических періодів онтогенезу здатно порушувати програму нормального розвитку статевих функцій, що у дорослих може супроводжуватися метаболічними розладами [35]. Так, показано, що введення ксеноестрогенів в ранній період онтогенезу приводить до збільшенню маси тіла і ожирінню в дорослому віці, зміні поведінки їжі, рівня ТГ, лептіна, інтерлейкіна-6, активності АЛТ [36]. Стрес в неонатальному віці сказувався на підвищенні

массы тела и изменении уровней ТГ, холестерина, грилина, лептина, глюкозы и инсулина у взрослых крыс [32, 37]. В нашем эксперименте у взрослых крыс, получавших ФЭ с молоком матери на фоне эмоционального стресса, обнаружено увеличение массы тела (до $391,0 \pm 4,1$ г по сравнению с $356,2 \pm 13,8$ г в контроле, $p < 0,05$) и содержание висцерального жира ($19715,2 \pm 4862,8$ мг по сравнению с $8540,0 \pm 684,3$ мг в контроле, $p < 0,05$). При этом уровень глюкозы в крови натошак несколько повышался (на 25 % на 30-е сутки эксперимента: до $4,0 \pm 0,3$ ммоль/л по сравнению с $3,2 \pm 0,2$ ммоль/л в контроле, на 16 % на 70-е сутки: $3,6 \pm 0,1$ ммоль/л по сравнению с $3,1 \pm 0,1$ ммоль/л в контроле), оставаясь в пределах физиологической нормы. Кроме того, у взрослых крыс этой группы в сыворотке крови снижалось содержание аргинина (на 11,4 %, $p < 0,05$), увеличивалась концентрация NOx (на 25 %, $p < 0,05$), почти в 2 раза повышалась активность АЛТ. Имели место проатерогенные изменения: повышение содержания ТГ – на 45 %, ОХ – 37,4 % ($p < 0,05$) (табл. 1). В семенниках крыс наблюдался рост суммарного содержания нитрат- и нитрит-анионов (на 23 %, $p < 0,05$), а в печени – снижение активности АЛТ (на 19,2 %, $p < 0,05$) (табл. 1). Таким образом, репродуктивные нарушения у самцов крыс, которые подверглись воздействию эмоционального стресса и фитоэстрогенизации в неонатальный период, во взрослом возрасте сопровождались метаболическими расстройствами липидного и белкового обмена, нарушением про/антиоксидантного баланса.

Т а б л и ц а 1. Гормональные и метаболические показатели самцов крыс, подвергшихся неонатальным вмешательствам, после корректирующей терапии в течение 70 сут ($\bar{x} + S_x^-$)

Table 1. Hormonal and metabolic parameters of male rats subjected to neonatal interventions after corrective therapy for 70 days ($\bar{x} + S_x^-$)

| Показатель | Группа | | | |
|---------------------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| | Контроль (n = 5) | Стресс + ФЭ (n = 5) | Стресс + ФЭ + НЧ-ф.к (n = 5) | Стресс + ФЭ + трибестан (n = 5) |
| <i>Сыворотка крови</i> | | | | |
| Тестостерон, нмоль/л | 9,10 ± 0,85 | 6,30 ± 0,43 ¹⁾ | 7,23 ± 0,45 | 9,15 ± 0,67 ²⁾ |
| Эстрадиол, нмоль/л | 0,54 ± 0,16 | 0,35 ± 0,10 | 0,65 ± 0,34 | 0,47 ± 0,09 |
| Тестостерон/эстрадиол, отн. ед. | 21,8 ± 4,8 | 27,3 ± 9,5 | 19,8 ± 6,0 | 22,4 ± 4,8 |
| Свободный аргинин, мкмоль/л | 246,5 ± 8,3 | 218,5 ± 8,2 ¹⁾ | 242,5 ± 8,6 | 237,1 ± 10,0 |
| NOx, мкмоль/л | 4,01 ± 0,14 | 5,00 ± 0,28 ¹⁾ | 5,07 ± 0,29 ¹⁾ | 5,77 ± 0,24 ¹⁾ |
| АЛТ, мккат/л | 1,25 ± 0,05 | 2,34 ± 0,08 ¹⁾ | 2,51 ± 0,09 ¹⁾ | 2,72 ± 0,09 ^{1), 2)} |
| АСТ, мккат/л | 0,61 ± 0,03 | 0,56 ± 0,03 | 0,54 ± 0,03 | 0,50 ± 0,03 |
| Триглицериды, ммоль/л | 0,74 ± 0,06 | 1,07 ± 0,12 ¹⁾ | 0,83 ± 0,06 | 1,05 ± 0,04 ¹⁾ |
| Общий холестерин, ммоль/л | 2,81 ± 0,36 | 3,86 ± 0,28 ¹⁾ | 2,14 ± 0,09 ²⁾ | 2,17 ± 0,26 ²⁾ |
| <i>Семенник</i> | | | | |
| Свободный аргинин, мкмоль/г | 54,5 ± 3,6 | 58,7 ± 2,6 | 48,9 ± 2,3 | 55,8 ± 2,4 |
| NOx, мкмоль/г | 4,04 ± 0,24 | 4,97 ± 0,23 ¹⁾ | 4,93 ± 0,19 ¹⁾ | 4,68 ± 0,13 ¹⁾ |
| АЛТ, мккат/г | 0,6 ± 0,06 | 0,71 ± 0,05 | 0,64 ± 0,04 | 0,62 ± 0,04 |
| АСТ, мккат/г | 1,00 ± 0,07 | 0,89 ± 0,09 | 0,82 ± 0,05 | 0,87 ± 0,07 |
| <i>Печень</i> | | | | |
| Свободный аргинин, мкмоль/г | 49,8 ± 2,5 | 46,5 ± 2,3 | 43,1 ± 2,5 | 42,5 ± 2,7 |
| NOx, мкмоль/г | 4,41 ± 0,12 | 4,01 ± 0,18 | 4,15 ± 0,13 | 3,94 ± 0,17 |
| АЛТ, мккат/г | 1,56 ± 0,09 | 1,2 ± 0,06 ¹⁾ | 1,40 ± 0,05 | 1,32 ± 0,09 |
| АСТ, мккат/г | 0,80 ± 0,09 | 0,91 ± 0,01 | 0,71 ± 0,05 ²⁾ | 0,70 ± 0,06 ²⁾ |

П р и м е ч а н и е. Статистически значимые отличия ($p < 0,05$): ¹⁾ – от данных группы Контроль; ²⁾ – от данных группы Стресс + ФЭ. То же в табл. 2.

Ослабление половой активности и ухудшение показателей сперматозоидов у самцов крыс группы Стресс + ФЭ приводит к ухудшению фертильности и плодовитости. Уменьшение количества самок, которые были оплодотворены, указывает на ухудшение (на 26 %, $p < 0,05$) полового поведения самцов, подвергшихся воздействию эмоционального стресса и фитоэстрогенизации в неонатальный период, по сравнению с контрольной группой. При этом почти все оплодотворенные самки оказались беременными. На вскрытии самок этой группы на 20-е сутки беременности зафиксирова-

но статистически достоверное уменьшение общего количества плодов (на 17 % от контроля, $p < 0,05$) за счет роста внутриутробных потерь: потери предимплантационного периода были на 46 % выше, постимплантационного периода – выше в 2,2 раза. Поэтому суммарные внутриутробные потери в этой группе были в 2,3 раза больше, чем в контроле, что свидетельствует о нарушениях формирования и созревания сперматозоидов на субклеточном и молекулярном уровнях. Меньшее число зародышей обусловило развитие более крупных плодов ($p < 0,05$) (табл. 2). Вследствие таких изменений величина показателя репродуктивного потенциала (Φ_i) у самцов группы Стресс + ФЭ была вдвое ниже контрольного уровня ($p < 0,05$) (рис. 3). Таким образом, стрессирование крысят мужского пола на фоне поступления избыточного количества ФЭ в неонатальный период нарушает копулятивную и сперматогенную функции взрослых животных, что приводит к уменьшению их способности к репродукции здорового потомства.

Полученные результаты согласуются с данными других авторов о том, что при воздействии экзогенных факторов в ранний период онтогенеза ухудшаются половое поведение и репродуктивная функция во взрослом возрасте, что связано с изменениями в нейроэндокринной системе и их влиянием на эпигенетические механизмы [3, 35, 36, 38].

Т а б л и ц а 2. Показатели беременности интактных самок, оплодотворенных самцами, подвергшихся неонатальному вмешательству и получавших корректирующую терапию ($\bar{x} \pm S_x$)

Table 2. Pregnancy indices of the intact females fertilized by males exposed to neonatal intervention and receiving corrective therapy ($\bar{x} \pm S_x$)

| Показатель | Группа | | | | | |
|---|----------------------|--------------------------|--------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| | Контроль (n = 42) | Стресс + ФЭ (n = 22) | Стресс + ФЭ + НЧ-с (n = 20) | Стресс + ФЭ + НЧ-ф.к. (n = 7) | Стресс + ФЭ + трибестан (n = 7) | Стресс + ФЭ + спеман (n = 17) |
| <i>Гибель эмбрионов (на самку), %</i> | | | | | | |
| Предимплантационная гибель | 7,4 ± 1,5 | 16,6 ± 3,6 ¹⁾ | 9,3 ± 3,7 | 13,4 ± 2,9 | 12,6 ± 7,2 | 13,5 ± 4,1 |
| Постимплантационная гибель | 8,8 ± 1,8 | 20,1 ± 4,8 ¹⁾ | 7,2 ± 2,1 ²⁾ | 4,2 ± 2,9 ²⁾ | 0,0 ± 0,0 ^{1), 2)} | 11,8 ± 5,7 |
| Суммарные внутриутробные потери | 15,7 ± 2,1 | 32,5 ± 5,1 ¹⁾ | 15,2 ± 4,2 ²⁾ | 16,6 ± 4,8 ²⁾ | 12,6 ± 7,2 ²⁾ | 22,8 ± 5,9 |
| <i>Количество плодов (на самку)</i> | | | | | | |
| Самки | 4,5 ± 0,3 | 3,5 ± 0,3 ¹⁾ | 4,8 ± 0,6 | 5,3 ± 0,9 | 5,0 ± 0,7 | 4,5 ± 0,5 |
| Самцы | 4,5 ± 0,3 | 4,0 ± 0,4 | 4,9 ± 0,6 | 3,9 ± 0,4 | 4,3 ± 0,8 | 4,4 ± 0,5 |
| Суммарное количество плодов | 9,0 ± 0,3 | 7,5 ± 0,6 ¹⁾ | 9,6 ± 0,6 | 9,1 ± 0,6 | 9,3 ± 0,8 | 8,8 ± 0,8 |
| Самки/самцы | 1,3 ± 0,1 | 1,0 ± 0,2 | 1,4 ± 0,3 | 1,6 ± 0,3 | 1,8 ± 0,6 | 1,4 ± 0,3 |
| <i>Масса плодов, г</i> | | | | | | |
| Самки | 2,1 ± 0,03 | 2,2 ± 0,05 ¹⁾ | 2,1 ± 0,05 | 2,2 ± 0,06 | 2,3 ± 0,06 ¹⁾ | 2,1 ± 0,05 |
| Самцы | 2,2 ± 0,03 | 2,3 ± 0,04 | 2,2 ± 0,04 | 2,3 ± 0,08 | 2,3 ± 0,10 | 2,4 ± 0,05 ¹⁾ |
| <i>Краниокаудальный размер плодов, мм</i> | | | | | | |
| Самки | 29,7 ± 0,2 | 30,7 ± 0,3 ¹⁾ | 29,9 ± 0,3 | 29,9 ± 0,5 | 30,4 ± 0,5 | 29,9 ± 0,3 |
| Самцы | 30,8 ± 0,2 | 31,7 ± 0,3 ¹⁾ | 31,5 ± 0,2 ¹⁾ | 30,4 ± 0,5 | 31,3 ± 0,5 | 31,4 ± 0,4 |

При проведении корректирующей терапии с помощью НЧ $GdVO_4:Eu^{3+}$ в составе субстанции или фармацевтической композиции у крыс с неонатально индуцированной репродуктопатией, несколько увеличивалось количество элементов ухаживательного поведения – $7,75 \pm 1,61$ и $7,50 \pm 1,63$ усл. ед. по сравнению с $6,67 \pm 0,96$ усл. ед. в контроле ($p < 0,05$). В группе Стресс + ФЭ + НЧ-с увеличился процент самцов, способных к эякуляции (до 38 %, $p < 0,05$), инициация спаривания и время наступления эякуляции у них были приближены к аналогичным значениям у интактных животных. Таким образом, применение НЧ в составе гидрозоля способствовало эффективности копуляции (наступлению эякуляции у большего процента животных), чего не наблюдалось при использовании НЧ в составе фармацевтической композиции и трибестана.

Применение корректирующих веществ в течение 70 сут у крыс основной группы нормализовало уровень Тс (см. табл. 1), что приводило к восстановлению как качественных, так и количественных характеристик сперматозоидов. Параметры спермограммы статистически значимо не отличались от данных контрольной группы, за исключением показателя подвижности сперматозоидов в группе Стресс + ФЭ + НЧ-с (уменьшение на 34 %, $p < 0,05$) (см. рис. 2).

Повышение уровня Тс и улучшение сперматогенеза наблюдалось другими авторами при использовании НЧ CeO_2 у старых крыс и ZnO у крыс с диабетом, что авторы связывали с антиоксидантным действием НЧ [9, 11].

Применение корректирующих веществ не оказывало выраженного эффекта на снижение массы тела и висцерального жира, но положительно влияло на метаболические процессы. После проведенной в течение 70 сут терапии НЧ $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ в составе фармацевтической композиции у взрослых самцов крыс в сыворотке крови нормализовалось содержание аргинина, ТГ и ОХ (табл. 1). Использование референтного препарата трибестан нормализовало концентрацию аргинина и ОХ, однако содержание ТГ оставалось на уровне такового у крыс группы Стресс + ФЭ, т. е. было больше, чем в контрольной группе (на 42 %, $p < 0,05$) (табл. 1). В печени после хронического поступления НЧ $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ в составе фармацевтической композиции или трибестана активность АЛТ достигала контрольных значений (см. табл. 1). Применение НЧ также предотвращало некоторое возрастное повышение уровня глюкозы в крови крыс.

Полученные результаты согласуются с данными, полученными другими авторами. При поступлении сульфата ванадила снижались уровни холестерина и липопротеинов высокой плотности, уменьшалось производство глюкозы, увеличивалось количество инсулиновых рецепторов [39, 40]. При применении хлорида гадолиния у крыс со стрептозотоциновым диабетом снижался уровень гипергликемии и повышалась чувствительность к инсулину [41]. Воздействие НЧ цинка и серебра снижало уровень глюкозы, повышало уровень Тс, продукцию и чувствительность к инсулину, положительно влияло на состояние репродуктивной системы, что связывали не только с антиоксидантным эффектом, но и с повышением уровня Тс вследствие увеличения продукции инсулина [11, 42].

При измерении массы органов выявлено, что у самцов основной группы увеличивалась относительная масса селезенки на 38 % ($356,5 \pm 33,8$ мг/100 г, $p < 0,05$) и на 52 % относительная масса вентральной простаты ($215,6 \pm 18,1$ мг/100 г, $p < 0,05$) по сравнению с контрольными значениями ($258,6 \pm 12,3$ и $142,1 \pm 13,2$ мг/100 г). В группе Стресс + ФЭ + НЧ-ф.к отмечалось снижение относительной массы тимуса (до $41,5 \pm 4,1$ мг/100 г, $p < 0,05$), а в группе Стресс + ФЭ + НЧ-с – тенденция к ее повышению ($65,7 \pm 2,4$ мг/100 г, $0,05 < p < 0,1$) относительно контроля ($59,9 \pm 2,3$ мг/100 г). Влияние НЧ $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ на изменение относительной массы тимуса свидетельствует о их возможном воздействии на иммунную систему. Отмечалось, что обогащение рациона бройлеров ванадием способствовало развитию тимуса за счет увеличения его относительной массы и снижения процента апоптотических тимоцитов, однако поступление ванадиевых соединений в высоких дозах приводило к снижению относительной массы тимуса и увеличению апоптоза [43]. У самцов, получавших НЧ $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ в составе фармацевтической композиции, отмечалось увеличение массы гипофиза на 23 % (до $11,7 \pm 0,7$ мг против $9,5 \pm 0,6$ мг в контроле, $p < 0,05$).

При определении общей гонадотропной активности выявлено, что у инфантильных самок мышей, которым вводили гомогенат гипофизов самцов группы Стресс + ФЭ + НЧ-ф.к, почти в 2 раза возрастала масса яичников (до $9,0 \pm 0,4$ против $4,8 \pm 0,7$ мг в контроле, $p < 0,05$), что может свидетельствовать о гонадотропном эффекте НЧ. Таким образом, некоторое увеличение массы гипофиза у крыс с неонатально индуцированными репродуктивными расстройствами, которые в течение 70 сут получали НЧ в составе фармацевтической композиции, и повышение гонадотропной активности гипофизов этих крыс могут указывать на возможный механизм действия НЧ $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ на репродуктивную функцию через центральный механизм регуляции.

Улучшение состояния сперматозоидов самцов крыс с неонатально индуцированными репродуктивными расстройствами после корректирующей терапии приводило к увеличению количе-

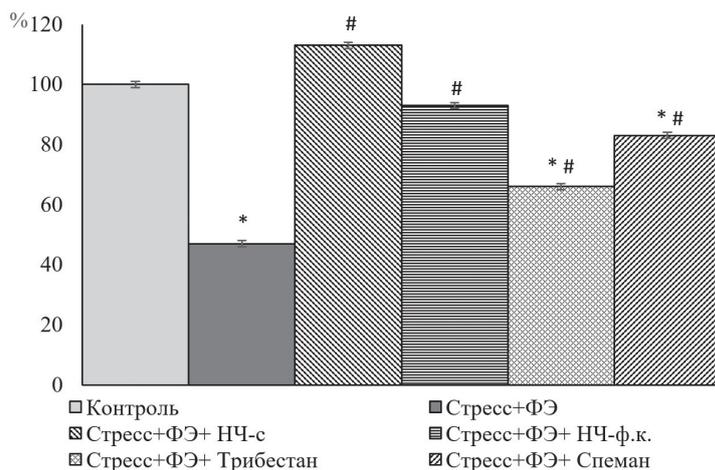


Рис. 3. Относительная величина интегрального показателя плодовитости F_i , % (данные группы Контроль приняты за 100 %). Статистически значимые отличия ($p < 0,05$): * – от данных группы Контроль; # – от данных группы Стресс + ФЭ

Fig. 3. Relative value of the integral fertility index F_i , % (the data of the control group are taken as 100 %). Statistically significant differences ($p < 0.05$): * – from the data of the control group; # – from Stress + FE

ства оплодотворенных ими самок: в группе Стресс + ФЭ + НЧ-ф.к индекс оплодотворения достигал 100 %, а в группе Стр + ФЭ + НЧ-с – 95 %, из них беременными оказались 78 и 95 % самок соответственно ($p < 0,05$). Применение референтных препаратов приводило к аналогичным результатам, однако по индексу беременности результаты в группе Спеман были лучше, чем в группе Трибестан (94 и 64 % соответственно, $p < 0,05$). Применение корректирующих веществ уменьшило гибель эмбрионов и нормализовало показатель плодовитости: в группе самок, оплодотворенных крысами, которым вводили НЧ в составе гидрозоля или фармакологической композиции, общие внутриутробные потери уменьшились вдвое, а в группе крыс, получавших трибестан, – в 2,6 раза ($p < 0,05$) (см. табл. 2).

В целом, применение корректирующих веществ в течение 70 сут улучшило репродуктивный потенциал самцов с неонатально индуцированной репродуктопатией: при скармливании НЧ в составе гидрозоля или фармакологической композиции показатель F_i повысился вдвое, при введении спемана и трибестана – в 1,7 и 1,4 раза соответственно по сравнению с группой Стресс + ФЭ ($p < 0,05$). При этом применение НЧ приближало этот показатель к его уровню у интактных крыс, чего не происходило при использовании трибестана и спемана (показатель средней реализованной плодовитости в этих случаях не достигал значений интактного контроля, $p < 0,05$) (рис. 3).

Известно, что инсулин влияет на репродуктивную функцию, контролируя секрецию гонадотропинов и повышая секрецию гонадотропин-рилизинг гормона [18–20, 44]. Предотвращение возрастного повышения уровня глюкозы в крови крыс, которые подверглись неонатальным вмешательствам, а затем получали НЧ $GdVO_4:Eu^{3+}$, а также некоторое увеличение гонадотропной активности их гипофизов могут указывать на возможную инсулиноподобную активность НЧ ортованадата гадолия, которая свойственна соединениям ванадия [16, 17, 39, 40], и на их влияние на репродуктивную функцию через центральный механизм регуляции.

Заключение. Проведенные исследования выявили некоторые различия в выраженности эффекта НЧ $GdVO_4:Eu^{3+}$ в составе гидрозоля или фармакологической композиции. По неопубликованным данным, гидрозоль и данная фармацевтическая композиция отличаются друг от друга величиной среднего гидродинамического диаметра частиц (в нм), что и может быть причиной отличий в биодоступности, распределении и, в конечном счете, биологической активности НЧ ортованадата гадолия. Эти данные указывают на особую значимость фактора окружения НЧ и обосновывают важность изучения эффекта введенных в состав фармацевтической композиции вспомогательных веществ.

Полученные данные свидетельствуют о том, что НЧ $GdVO_4:Eu^{3+}$ оказывают положительное влияние на репродуктивную функцию самцов крыс с неонатально индуцированными репродук-

тивними расстройтвами, нормалізуя уровень Тс, сперматогенез, позитивно влияя на метаболіческие процессы, фертильность и плодовитость, уменьшая эмбриональную смертность и в целом улучшая репродуктивный потенциал самцов. Изменение массы гипофиза у самцов, получавших лекарственную форму НЧ $GdVO_4:Eu^{3+}$, и повышение гонадотропной активности их гипофизов может указывать на возможный механизм действия данных НЧ на репродуктивную функцию через центральный механизм регуляции.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Поворознюк, М. В. Поширеність та основні причини безпліддя у чоловіків / М. В. Поворознюк // Мед. аспекти здоров'я людини. – 2012. – № 3 (5). – С. 62–73.
2. Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm counts / M. Punab [et al.] // *Human Reproduction*. – 2017. – Vol. 32, N 1. – P. 18–31. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew284>
3. Dickerson, S. M. Estrogenic environmental endocrine-disrupting chemical effects on reproductive neuroendocrine function and dysfunction across the life cycle / S. M. Dickerson, A. C. Gore // *Rev. Endocrine and Metab. Disorders*. – 2007. – Vol. 8, N 2. – P. 143–159. <https://doi.org/10.1007/s11154-007-9048-y>
4. Gudeloglu, A. Medical management of male infertility in the absence of a specific etiology / A. Gudeloglu, J. V. Brahmabhatt, S. J. Parekattil // *Seminars in Reproductive Medicine*. – 2014. – Vol. 32, N 4. – P. 313–318. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1375184>
5. Чекман, І. С. Фізіологічні та фармакологічні властивості нанорозмірних структур / І. С. Чекман // Фізіол. журн. – 2015. – Т. 61, № 6. – С. 129–138.
6. Impact of metal nanoparticles on germ cell viability and functionality / U. Taylor [et al.] // *Reproduction in Domestic Animals*. – 2012. – Vol. 47, N s4. – P. 359–368. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02099.x>
7. Albanese, A. The effect of nanoparticle size, shape, and surface chemistry on biological systems / A. Albanese, P. S. Tang, W. C. W. Chan // *Annu. Rev. Biomed. Eng.* – 2012. – Vol. 14. – P. 1–16.
8. Gold nanoparticles elevate plasma testosterone levels in male mice without affecting fertility / W.-Q. Li [et al.] // *Small*. – 2013. – Vol. 9, N 9–10. – P. 1708–1714. <https://doi.org/10.1002/sml.201201079>
9. Antioxidative effects of cerium dioxide nanoparticles ameliorate age-related male infertility: optimistic results in rats and the review of clinical clues for integrative concept of men health and fertility / N. M. Kobyliak [et al.] // *EPMA J.* – 2015. – Vol. 6, N 1. – P. 12. <https://doi.org/10.1186/s13167-015-0034-2>
10. Нанокристаллический диоксид церия повышает функциональную активность репродуктивной системы стареющих самцов крыс / Н. Я. Спивак [и др.] // *Наносистемы: физика, химия, математика*. – 2013. – Т. 4, № 1. – С. 72–77.
11. Afifi, M. Ameliorative effect of zinc oxide nanoparticles on antioxidants and sperm characteristics in streptozotocin-induced diabetic rat testes / M. Afifi, O. A. Almaghrabi, N. M. Kadasa // *Biomed Res. Int.* – 2015. – Vol. 2015. – Art. 153573. <https://doi.org/10.1155/2015/153573>
12. Protective effects of nanostructures of hydrated C 60 fullerene on reproductive function in streptozotocin-diabetic male rats / R. Bal [et al.] // *Toxicology*. – 2011. – Vol. 282, N 3. – P. 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2010.12.003>
13. The effects of chronic intake of nanoparticles of cerium dioxide or gadolinium ortovanadate into aging male rats / N. A. Karpenko [et al.] // *Proceedings of the International conference nanomaterials: applications and properties / Sumy State Univ.* – Sumy, 2013. – Vol. 2, N 4. – P. 04NABM28.
14. Gadolinium-based nanoparticles for theranostic MRI-radiosensitization / F. Lux [et al.] // *Nanomedicine*. – 2015. – Vol. 10, N 11. – P. 1801–1815. <https://doi.org/10.2217/nnm.15.30>
15. Multifunctional rare-earth vanadate nanoparticles: luminescent labels, oxidant sensors, and MRI contrast agents / M. Abdesselem [et al.] // *ACS Nano*. – 2014. – Vol. 8, N 11. – P. 11126–11137. <https://doi.org/10.1021/nn504170x>
16. Воробьева, Н. М. Ванадий: биологическая роль, токсикология и фармакологическое применение / Н. М. Воробьева, Е. В. Федорова, Н. И. Баранова // *Биосфера*. – 2013. – Т. 5, № 1. – С. 77–96.
17. Vanadium and its complexes: the renewed interest in its biochemistry / M. T. Pepato [et al.] // *Lat. Am. J. Pharm.* – 2008. – Vol. 27, N 3. – P. 468–476.
18. Insulin: its role in the central control of reproduction / J. H. Sliwowska [et al.] // *Physiol. Behavior*. – 2014. – Vol. 133. – P. 197–206. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.021>
19. An essential role for insulin and IGF1 receptors in regulating sertoli cell proliferation, testis size, and FSH action in mice / J.-L. Pitetti [et al.] // *Mol. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 27, N 5. – P. 814–827. <https://doi.org/10.1210/me.2012-1258>
20. Lampiao, F. Insulin and leptin enhance human sperm motility, acrosome reaction and nitric oxide production / F. Lampiao, S. S. du Plessis // *Asian J. Androl.* – 2008. – Vol. 10, N 5. – P. 799–807. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7262.2008.00421.x>
21. Wet-chemical synthesis and characterization of luminescent colloidal nanoparticles: $ReVO_4:Eu^{3+}$ ($Re=La, Gd, Y$) with rod-like and spindle-like shape / V. K. Klochkov [et al.] // *Functional Materials*. – 2011. – Vol. 18, N 1. – P. 111–115.
22. Лабораторные животные : разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк [и др.]. – 3-е изд., перераб. и доп. – К. : Вища шк., 1983. – 384 с.
23. Пат. 95758 Україна, МПК А61В5/103. Спосіб моделювання неонатально індукованої гіпофертильності самців / Н. О. Карпенко, Е. С. Чистякова, Є. М. Коренева, Н. Ф. Величко (UA) ; заявник і патентовласник ДУ «Ін-т

проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (UA). – № у 2014 06302; заявл. 06.06.14 ; опубл. 12.01.15, Бюл. № 1. – 4 с.

24. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / ред. О. В. Стефанов. – К. : Авіцена, 2001. – 527 с.

25. Інтегральна оцінка репродуктивної функції самців лабораторних тварин / Н. О. Карпенко [та інш.] // Укр. біофарм. журн. – 2011. – Т. 13, № 2. – С. 64–68.

26. Алейникова, Т. Л. Руководство к практическим занятиям по биохимии / Т. Л. Алейникова, Г. В. Рубцова, Н. А. Павлова. – М. : Медицина, 2000. – 126 с.

27. Резников, А. Г. Методы определения гормонов : справ. пособие / А. Г. Резников. – К. : Наук. думка, 1980. – 400 с.

28. Гладкова, А. И. Андрологические проявления стресса / А. И. Гладкова. – Харьков : С. А. М, 2013. – 268 с.

29. The relative roles of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in maintaining spermatogonial maturation and spermiation in normal men / K. L. Matthiesson [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2006. – Vol. 91, N 10. – P. 3962–3969. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-1145>

30. Exposure to genistein during gestation and lactation demasculinizes the reproductive system in rats / A. B. Wisniewski [et al.] // J. Urology. – 2003. – Vol. 169, N 4. – P. 1582–1586. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000046780.23389.e0>

31. Henry, L. A. Effects of neonatal resveratrol exposure on adult male and female reproductive physiology and behavior / L. A. Henry, D. M. Witt // Developmental Neuroscience. – 2006. – Vol. 28, N 3. – P. 186–195. <https://doi.org/10.1159/000091916>

32. Rainecki, C. Neonatal handling: an overview of the positive and negative effects / C. Rainecki, A. B. Lucion, J. Weinberg // Developmental Psychobiology. – 2014. – Vol. 56, N 8. – P. 1613–1625. <https://doi.org/10.1002/dev.21241>

33. Stress and the reproductive axis / D. Toufexis [et al.] // J. Neuroendocrinology. – 2014. – Vol. 26, N 9. – P. 573–586. <https://doi.org/10.1111/jne.12179>

34. Новикова, Е. Г. Ассоциация эректильной дисфункции с гипогонадизмом и метаболическим синдромом у мужчин разных возрастных групп / Е. Г. Новикова, Ю. В. Лутов, В. Г. Селяницкая // Успехи геронтологии. – 2012. – Т. 25, № 4. – С. 685–690.

35. Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility / T. T. Schug [et al.] // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2011. – Vol. 127, N 3–5. – P. 204–215. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.08.007>

36. Newbold, R. R. Developmental exposure to endocrine-disrupting chemicals programs for reproductive tract alterations and obesity later in life / R. R. Newbold // Am. J. Clin. Nutrition. – 2011. – Vol. 94, N 6, suppl. – P. 1939S–1942S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.001057>

37. Overweight and metabolic and hormonal parameter disruption are induced in adult male mice by manipulations during lactation period / A. Loizzo [et al.] // Pediatr. Res. – 2006. – Vol. 59, N 1. – P. 111–115. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000190575.12965.ce>

38. Vaiserman, A. Early-life exposure to endocrine disrupting chemicals and later-life health outcomes: an epigenetic bridge? / A. Vaiserman // Aging and Disease. – 2014. – Vol. 5, N 6. – P. 419–429. <https://doi.org/10.14336/ad.2014.0500419>

39. Metabolic effects of vanadyl sulfate in humans with non-insulin-dependent diabetes mellitus: *in vivo* and *in vitro* studies / A. B. Goldfine [et al.] // Metabolism. – 2000. – Vol. 49, N 3. – P. 400–410. [https://doi.org/10.1016/s0026-0495\(00\)90418-9](https://doi.org/10.1016/s0026-0495(00)90418-9)

40. Alternative therapies for diabetes and its cardiac complications: role of vanadium / T. A. Clark [et al.] // Heart Failure Rev. – 2014. – Vol. 19, N 1. – P. 123–132. <https://doi.org/10.1007/s10741-013-9380-0>

41. GdCl₃ reduces hyperglycaemia through Akt/FoxO1-induced suppression of hepatic gluconeogenesis in type 2 diabetic mice / Q. Wang [et al.] // Clin. Sci. – 2014. – Vol. 127, N 2. – P. 91–100. <https://doi.org/10.1042/cs20130670>

42. Alkaladi, A. M. Antidiabetic activity of zinc oxide and silver nanoparticles on streptozotocin-induced diabetic rats / A. Alkaladi, A. M. Abdelazim, M. Afifi // Int. J. Mol. Sci. – 2014. – Vol. 15, N 2. – P. 2015–2023. <https://doi.org/10.3390/ijms15022015>

43. Cui, W. Vanadium toxicity in the thymic development / W. Cui, H. Guo, H. Cui // Oncotarget. – 2015. – Vol. 6, N 30. – P. 28661–28677. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5798>

44. Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH-and LH-linked mechanisms / J. Ballester [et al.] // J. Androl. – 2004. – Vol. 25, N 5. – P. 706–719. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2004.tb02845.x>

References

1. Povoroznyuk M. V. Prevalence and main causes of infertility in men. Meditsinskie aspekty zdorov'ya muzhchiny [Medical aspects of male health], 2012, no. 3 (5), pp. 62–73 (in Ukrainian).
2. Punab M., Poolamets O., Paju P., Vihljajev V., Pomm K., Ladva R., Korrovits P., Laan M. Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm counts. *Human Reproduction*, 2017, vol. 32, no. 1, pp. 18–31. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew284>
3. Dickerson S. M., Gore A. C. Estrogenic environmental endocrine-disrupting chemical effects on reproductive neuroendocrine function and dysfunction across the life cycle. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 2007, vol. 8, no. 2, pp. 143–159. <https://doi.org/10.1007/s11154-007-9048-y>
4. Gudeloglu A., Brahmabhatt J. V., Parekattil S. J. Medical management of male infertility in the absence of a specific etiology. *Seminars in Reproductive Medicine*, 2014, vol. 32, no. 4, pp. 313–318. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1375184>
5. Chekman I. S. Physiological and pharmacological properties of nanosized structures. *Fiziologichnii zhurnal* [Physiological journal], 2015, vol. 61, no. 6, pp. 129–138 (in Ukrainian).

6. Taylor U., Barchanski A., Kues W., Barcikowski S., Rath D. Impact of metal nanoparticles on germ cell viability and functionality. *Reproduction in Domestic Animals*, 2012, vol. 47, no. s4, pp. 359–368. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02099.x>
7. Albanese A., Tang P. S., Chan W. C. W. The effect of nanoparticle size, shape, and surface chemistry on biological systems. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 2012, no. 14, pp. 1–16.
8. Li W.-Q., Wang F., Liu Z.-M., Wang Y.-C., Wang J., Sun F. Gold nanoparticles elevate plasma testosterone levels in male mice without affecting fertility. *Small*, 2013, vol. 9, no. 9–10, pp. 1708–1714. <https://doi.org/10.1002/smll.201201079>
9. Kobylak N. M., Falalyeyeva T. M., Kuryk O. G., Beregova T. V., Bodnar P. M., Zholobak N. M., Shcherbakov O. B., Bubnov R. V., Spivak M. Y. Antioxidative effects of cerium dioxide nanoparticles ameliorate age-related male infertility: optimistic results in rats and the review of clinical clues for integrative concept of men health and fertility. *EPMA Journal*, 2015, vol. 6, no. 1, p. 12. <https://doi.org/10.1186/s13167-015-0034-2>
10. Spivak N. Y., Nosenko N. D., Zholobak N. M., Shcherbakov A. B., Reznikov A. G., Ivanova O. S., Ivanov V. K., Tret'yakov Yu. D. Anoxic cerium dioxide increases the functional activity of the reproductive system of aging male rats. *Nanosistemy: fizika, khimiya, matematika = Nanosystems: Physics, Chemistry, Mathematics*, 2013, vol. 4, no. 1, pp. 72–77 (in Russian).
11. Afifi M., Almaghrabi O. A., Kadasa N. M. Ameliorative effect of zinc oxide nanoparticles on antioxidants and sperm characteristics in streptozotocin-induced diabetic rat testes. *BioMed Research International*, 2015, vol. 2015, art. 153573. <https://doi.org/10.1155/2015/153573>
12. Bal R., Türk G., Tuzcu M., Yilmaz O., Ozercan I., Kuloglu T., Gür S., Nedzvetsky V. S., Tykhomyrov A. A., Andrievsky G. V., G. Baydas, Naziroglu M. Protective effects of nanostructures of hydrated C 60 fullerene on reproductive function in streptozotocin-diabetic male rats. *Toxicology*, 2011, vol. 282, no. 3, pp. 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2010.12.003>
13. Karpenko N. A., Malukin Yu. V., Koreneva E. M., Klochkov V. K., Kavok N. S., Smolenko N. P., Pochernyaeva S. S. The effects of chronic intake of nanoparticles of cerium dioxide or gadolinium ortovanadate into aging male rats. *Proceedings of the International conference nanomaterials: applications and properties*. Sumy, 2013, vol. 2, no. 4, p. 04NABM28.
14. Lux F., Sancey L., Bianchi A., Crémillieux Y., Roux S., Tillement O. Gadolinium-based nanoparticles for theranostic MRI-radiosensitization. *Nanomedicine*, 2015, vol. 10, no. 11, pp. 1801–1815. <https://doi.org/10.2217/nmm.15.30>
15. Abdesselem M., Schoeffel M., Maurin I., Ramodiharilafy R., Autret G., Clément O., Tharaux P.-L., Boilot J.-P., Gacoin T., Bouzigues C., Alexandrou A. Multifunctional rare-earth vanadate nanoparticles: luminescent labels, oxidant sensors, and MRI contrast agents. *ACS Nano*, 2014, vol. 8, no. 11, pp. 11126–11137. <https://doi.org/10.1021/nm504170x>
16. Vorob'eva N. M., Fedorova E. V., Baranova N. I. Vanadium: biological role, toxicology and pharmacological application. *Biosfera = Biosphere*, 2013, vol. 5, no. 1, pp. 77–96 (in Russian).
17. Pepato M. T., Khalil N. M., Giocondo M. P., Brunetti I. L. Vanadium and its complexes: the renewed interest in its biochemistry. *Latin American Journal of Pharmacy*, 2008, vol. 27, no. 3, pp. 468–476.
18. Sliwowska J. H., Fergani C., Gawalek M., Skowronska B., Fichna P., Lehman M. N. Insulin: its role in the central control of reproduction. *Physiology and Behavior*, 2014, vol. 133, pp. 197–206. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.021>
19. Pitetti J.-L., Calvel P., Zimmermann C., Conne B., Papaioannou M. D., Aubry F., Cederroth Ch. R., Urner F., Fumel B., Crausaz M., Docquier M., Herrera P. L., Pralong F., Germond M., Guillou F., Jégou B., Nef S. An essential role for insulin and IGF1 receptors in regulating sertoli cell proliferation, testis size, and FSH action in mice. *Molecular Endocrinology*, 2013, vol. 27, no. 5, pp. 814–827. <https://doi.org/10.1210/me.2012-1258>
20. Lampiao F., du Plessis S. S. Insulin and leptin enhance human sperm motility, acrosome reaction and nitric oxide production. *Asian Journal of Andrology*, 2008, vol. 10, no. 5, pp. 799–807. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7262.2008.00421.x>
21. Klochkov V. K., Malyshenko A. I., Sedykh O. O., Malyukin Yu. V. Wet-chemical synthesis and characterization of luminescent colloidal nanoparticles: ReVO₄: Eu³⁺(Re=La, Gd, Y) with rod-like and spindle-like shape. *Functional Materials*, 2011, vol. 18, no. 1, pp. 111–115.
22. Zapadnyuk I. P., Zapadnyuk V. I., Zakhariya E. A., Zapadnyuk B. V. *Laboratory animals. Breeding, content, use in the experiment*. 3rd ed. Kiev, Vishcha shkola Publ., 1983. 384 p. (in Russian).
23. Karpenko N. O., Chystjakova E. Ye., Korenjeva E. M., Velychko N. F. *Method of modeling of neonatal induced male low fertility*. Patent UA, no. u 2014 06302, 2014 (in Ukrainian).
24. Stefanov O. V. (ed.). *Pre-clinical research of medicinal products*. Kiev, Avicena Publ., 2001. 527 p. (in Ukrainian).
25. Karpenko, N. O., Tal'ko V. V., Omel'chuk S. T., Lapta S. S. Integral evaluation of reproductive function of males of laboratory animals. *Ukrain's'kyj biofarmaceutychnyj zhurnal = Ukrainian Biopharmaceutical Journal*, 2011, vol. 13, no. 2, pp. 64–68 (in Ukrainian).
26. Aleinikova T. L., Rubtsova G. V., Pavlova N. A. *A guide to practical studies of biochemistry*. Moscow, Meditsina Publ., 2000. 126 p. (in Russian).
27. Reznikov A. G. *Methods for determining hormones*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1980. 400 p. (in Russian).
28. Gladkova A. I. *Andrological manifestations of stress*. Kharkiv, S. A. M Publ., 2013. 268 p. (in Russian).
29. Matthiesson K. L., McLachlan R. I., O'Donnell L., Frydenberg M., Robertson D. M., Stanton P. G., Meachem S. J. The relative roles of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in maintaining spermatogonial maturation and spermiation in normal men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2006, vol. 91, no. 10, pp. 3962–3969. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-1145>
30. Wisniewski A. B., Klein S. L., Lakshmanan Y., Gearhart J. P. Exposure to genistein during gestation and lactation demasculinizes the reproductive system in rats. *Journal of Urology*, 2003, vol. 169, no. 4, pp. 1582–1586. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000046780.23389.e0>
31. Henry L. A., Witt D. M. Effects of neonatal resveratrol exposure on adult male and female reproductive physiology and behavior. *Developmental Neuroscience*, 2006, vol. 28, no. 3, pp. 186–195. <https://doi.org/10.1159/000091916>

32. Raineki C., Lucion A. B., Weinberg J. Neonatal handling: an overview of the positive and negative effects. *Developmental Psychobiology*, 2014, vol. 56, no. 8, pp. 1613–1625. <https://doi.org/10.1002/dev.21241>
33. Toufexis D., Rivarola M. A., Lara H., Viau V. Stress and the reproductive axis. *Journal of Neuroendocrinology*, 2014, vol. 26, no. 9, pp. 573–586. <https://doi.org/10.1111/jne.12179>
34. Novikova E. G., Lutov Yu. V., Selyatitskaya V. G. Erectile dysfunction association with hypogonadism and metabolic syndrome among men of various age groups. *Uspekhi gerontologii = Advances in Gerontology*, 2012, vol. 25, no. 4, pp. 685–690 (in Russian).
35. Schug T. T., Janesick A., Blumberg B., Heindel J. J. Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2011, vol. 127, no. 3–5, pp. 204–215. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.08.007>
36. Newbold R. R. Developmental exposure to endocrine-disrupting chemicals programs for reproductive tract alterations and obesity later in life. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2011, vol. 94, no. 6, suppl., pp. 1939S–1942S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.001057>
37. Loizzo A., Loizzo S., Galiotta G., Caiola S., Spampinato S., Campana G., Seghieri G., Ghirlanda G., Franconi F. Overweight and metabolic and hormonal parameter disruption are induced in adult male mice by manipulations during lactation period. *Pediatric Research*, 2006, vol. 59, no. 1, pp. 111–115. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000190575.12965.ce>
38. Vaiserman A. Early-life exposure to endocrine disrupting chemicals and later-life health outcomes: an epigenetic bridge? *Aging and Disease*, 2014, vol. 5, no. 6, pp. 419–429. <https://doi.org/10.14336/ad.2014.0500419>
39. Goldfine A. B., Patti M.-E., Zuberi L., Goldstein B. J., LeBlanc R., Landaker E. J., Jiang Z. Y., Willsky G. R., Kahn C. R. Metabolic effects of vanadyl sulfate in humans with non-insulin-dependent diabetes mellitus: *in vivo* and *in vitro* studies. *Metabolism*, 2000, vol. 49, no. 3, pp. 400–410. [https://doi.org/10.1016/s0026-0495\(00\)90418-9](https://doi.org/10.1016/s0026-0495(00)90418-9)
40. Clark T. A., Deniset J. F., Heyliger C. E., Pierce G. N. Alternative therapies for diabetes and its cardiac complications: role of vanadium. *Heart Failure Reviews*, 2014, vol. 19, no. 1, pp. 123–132. <https://doi.org/10.1007/s10741-013-9380-0>
41. Wang Q., Wang N., Dong M., Chen F., Li Z., Chen Y. GdCl₃ reduces hyperglycaemia through Akt/FoxO1-induced suppression of hepatic gluconeogenesis in type 2 diabetic mice. *Clinical Science*, 2014, vol. 127, no. 2, pp. 91–100. <https://doi.org/10.1042/cs20130670>
42. Alkaladi A., Abdelazim A. M., Afifi M. Antidiabetic activity of zinc oxide and silver nanoparticles on streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, vol. 15, no. 2, pp. 2015–2023. <https://doi.org/10.3390/ijms15022015>
43. Cui W., Guo H., Cui H. Vanadium toxicity in the thymic development. *Oncotarget*, 2015, vol. 6, no. 30, pp. 28661–28677. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5798>
44. Ballester J., Muñoz M. C., Domínguez J., Rigau T., Guinovart J. J., Rodríguez-Gil J. E. Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH-linked mechanisms. *Journal of Andrology*, 2004, vol. 25, no. 5, pp. 706–719. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2004.tb02845.x>

Информация об авторах

Белкина Инна Олеговна – мл. науч. сотрудник. Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины (ул. Алчевских, 10, 61002, г. Харьков, Украина). E-mail: inna-bel@mail.ru

Карпенко Нина Алексеевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, заведующий лабораторией. Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины (ул. Алчевских, 10, 61002, г. Харьков, Украина). E-mail: nina.a.karpenko@gmail.com

Коренева Евгения Михайловна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины (ул. Алчевских, 10, 61002, г. Харьков, Украина). E-mail: eugenia_koreneva@ukr.net

Смоленко Наталья Павловна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины (ул. Алчевских, 10, 61002, г. Харьков, Украина). E-mail: smtaska@ukr.net

Чистякова Элина Евгеньевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины (ул. Алчевских, 10, 61002, г. Харьков, Украина). E-mail: chistelina@i.ua

Клочков Владимир Кириллович – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник. Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины (пр. Науки, 60, 61072, г. Харьков, Украина)

Information about the authors

Inna O. Belkina – Junior researcher. V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (10, Alchevsky, 61002, Kharkiv, Ukraine). E-mail: inna-bel@mail.ru

Nina A. Karpenko – Ph. D. (Biol.), Senior researcher, Head of the Laboratory. V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (10, Alchevsky, 61002, Kharkiv, Ukraine). E-mail: nina.a.karpenko@gmail.com

Evgenia M. Koreneva – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (10, Alchevsky, 61002, Kharkiv, Ukraine). E-mail: eugenia_koreneva@ukr.net

Natalia P. Smolenko – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (10, Alchevsky, 61002, Kharkiv, Ukraine). E-mail: smtaska@ukr.net

Elina E. Chistyakova – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (10, Alchevsky, 61002, Kharkiv, Ukraine). E-mail: chistelina@i.ua

Vladimir K. Klochkov – Ph. D. (Chem.), Senior researcher. Institute for Scintillation Materials of the National Academy of Sciences of Ukraine (60, Nauky Ave, 61072, Kharkiv, Ukraine)

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616-006.446.8-085

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-306-314>

Поступила в редакцию 28.12.2017

Received 28.12.2017

М. В. Борисевич

*Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии,
д. Боровляны, Республика Беларусь*

ПЕРВАЯ ЛИНИЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Аннотация. Включение иматиниба в первую линию лечения хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) у детей позволило кардинально повысить их выживаемость. Однако примерно у 20–30 % пациентов при лечении иматинибом в первой линии развивается первичная или вторичная резистентность. С целью выявления прогностических факторов, определяющих характер течения ХМЛ, проведен мониторинг минимальной остаточной болезни на фоне длительного приема иматиниба, определены варианты химерного онкогена *BCR/ABL* у 22 пациентов 0–17 лет. Показано, что более раннее наступление большого молекулярного ответа достоверно улучшает бессобытийную выживаемость, снижая риск прогрессирования ХМЛ, а результаты лечения у пациентов с *b3a2* вариантом молекулярного транскрипта лучше, чем у пациентов с *b2a2* вариантом.

Таким образом, своевременная коррекция терапии в соответствии с данными мониторинга глубины молекулярного ответа позволила достичь высоких показателей общей выживаемости детей с ХМЛ.

Ключевые слова: хронический миелоидный лейкоз, дети, выживаемость, минимальная остаточная болезнь, иматиниб

Для цитирования: Борисевич, М. В. Первая линия лечения хронического миелоидного лейкоза у детей и подростков в Республике Беларусь / М. В. Борисевич // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 306–314. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-306-314>

M. V. Borisevich

Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, v. Borovliany, Republic of Belarus

FIRST LINE OF TREATMENT OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA IN CHILDREN AND ADOLESCENTS IN THE REPUBLIC OF BELARUS

Abstract. Survival was cardinally increased after introducing Imatinib into the first line of therapy of chronic myeloid leukemia (CML) in children. However primary or second resistance was observed in 20–30 % of patients. For the purpose of detection of prognostic factors, a minimal residual disease was monitored in 22 patients at an age of 0–17 years. Furthermore, different variants of *BCR/ABL* transcript were identified. The results showed that patients with an early major molecular response and a *b3a2* variant of the *BCR/ABL* transcript had significantly better results of treatment. In conclusion, a regular monitoring of a deep molecular response and a further correction of therapy allowed one to increase long-term overall survival in children with CML.

Keywords: chronic myeloid leukemia, children, survival, minimal residual disease, Imatinib

For citation: Borisevich M. V. First line of treatment of chronic myeloid leukemia in children and adolescents in the Republic of Belarus. *Vesti Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 306–314 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-306-314>

Введение. Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) – миелопролиферативное заболевание, в основе которого лежит образование в стволовых клетках химерного онкогена *BCR/ABL*, продуктом которого является белок p210 с повышенной тирозинкиназной активностью. В зависимости от локализации точки разрыва могут возникать различные типы химерного транскрипта *BCR/ABL*. У подавляющего большинства пациентов с ХМЛ обнаруживают транскрипты *e13a2(b2a2)* или *e14a2(b3a2)* [1].

Иматиниб как ингибитор тирозинкиназы (ИТК) был рекомендован в качестве терапии первой линии у взрослых пациентов с ХМЛ. До начала использования ИТК у детей использовались препараты интерферона и, как единственный радикальный метод лечения, аллогенная транс-

плантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Активное внедрение препарата группы ИТК иматиниба в «детские» схемы лечения ХМЛ повлияло на тактику в отношении проведения алло-ТГСК в первую линию терапии.

ХМЛ у детей до 18 лет редкое заболевание, поэтому сведения о результатах лечения иматинибом в данной возрастной группе немногочисленны. Многолетнее изучение минимальной остаточной болезни у взрослых пациентов с ХМЛ на фоне лечения иматинибом показало, что, несмотря на достигнутый полный цитогенетический ответ (ПЦО), еще длительное время может определяться молекулярный транскрипт *BCR/ABL*. Изучение глубины молекулярного ответа в определенные сроки и его кинетики на фоне продолжающегося лечения иматинибом важны для прогнозирования течения и исхода заболевания [2].

Несмотря на впечатляющие успехи патогенетической терапии, у одних пациентов изначально отмечается резистентность к иматинибу либо потеря ответа на него в процессе лечения, а у других не удается достигнуть полной молекулярной ремиссии, что в дальнейшем затрудняет процесс принятия решения в отношении тактики лечения. Кроме того, на сегодняшний день является актуальным поиск прогностических факторов развития резистентности и субоптимального ответа на иматиниб.

В Республике Беларусь препарат иматиниб в первой линии лечения ХМЛ применяется у детей и подростков с 2002 г.

Цель данной работы – анализ вариантов течения хронического миелоидного лейкоза и результатов его лечения у детей и подростков на фоне длительного приема иматиниба по результатам многолетних наблюдений.

Материалы и методы исследования. В исследование были включены 22 пациента в возрасте 0–17 лет (медиана – 13 лет, отношение мальчики/девочки – 1,2) с *Ph* (Philadelphia chromosome)-позитивным ХМЛ в первой хронической фазе, получавшие лечение в Республиканском научно-практическом центре детской онкологии, гематологии и иммунологии с августа 2002 г. по сентябрь 2017 г. Медиана наблюдения от даты начала терапии до сентября 2017 г. составила 86 (от 3 до 180) мес. Основные демографические и клинико-лабораторные характеристики пациентов представлены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. Демографические и клинические характеристики группы пациентов с ХМЛ ($n = 22$), получающих иматиниб в первую линию

Table 1. Demographic and clinical characteristics of a group of patients with chronic myeloid leukemia ($n = 22$) receiving Imatinib in the first line

| Характеристика | Пациенты ($n = 22$) |
|--|---|
| Пол (М/Ж) | 12 (55 %)/10 (45 %) |
| Возраст, лет | Медиана – 13 (2 ребенка в возрасте 1–4 года) |
| Размер селезенки ниже реберной дуги, см | Медиана – 2,0 (2–14) |
| Уровень лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$ | Медиана – 67 (29–524) |
| Уровень гемоглобина, г/л | Медиана – 113 (89–161) |
| Уровень базофилов, % | Медиана – 2 (1–10) |
| Вариант транскрипта: | |
| <i>b3a2</i> | 15 (68 %) |
| <i>b2a2</i> | 7 (32 %) |

Для подтверждения диагноза ХМЛ проводили цитогенетический и молекулярный анализ образцов периферической крови и костного мозга. Цитогенетический анализ выполняли с использованием аспирата костного мозга, согласно стандартным протоколам исследовали не менее 20 метафаз. При трудностях в проведении рутинного цитогенетического анализа использовали *FISH* (*fluorescence in situ hybridization*) метод.

Для качественного и количественного определения *BCR/ABL* проводилась полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени. При проведении исследования в качестве мишени использовали химерный онкоген *BCR/ABL* и контрольный ген *ABL* согласно стандартизованно-

му протоколу, предложенному в 2003 г. в рамках Европейской Программы по борьбе с раком [3]. Для каждого пациента количество химерного транскрипта было нормализовано по отношению к количеству контрольного гена в этом же образце. Использование контрольного гена позволяет не только рассчитать соотношение нормальных и лейкозных клеток, но и оценить качество постановки реакции. В настоящее время в качестве контрольного гена общепризнано использование гена *ABL*. Нормализованное значение химерного транскрипта в первой точке (момент постановки диагноза) принималось за 100 %. Все образцы проанализированы в дубликатах. Образцы с уровнем экспрессии контрольного гена менее 1000 копий или негативные были исключены из исследования.

Динамику уровня транскрипта *BCR/ABL* оценивали ежемесячно первые 3 мес. от начала терапии иматинибом, затем каждые 3 мес. до полного исчезновения транскрипта. При подозрении на потерю молекулярного ответа выполняли двукратный анализ с интервалом 2–3 недели. С целью подтверждения полной молекулярной ремиссии ПЦР выполняли ежемесячно в течение 3–4 мес.

Всем пациентам назначен иматиниб в качестве патогенетической терапии первой линии с медианой стартовой дозы 300 (105–400) мг/м²/сут.

Для оценки ответа на терапию использовали международные критерии (табл. 2). Так, критериями полного гематологического ответа (ПГО) считали: уровень лейкоцитов менее 10·10⁹/л, базофилов менее 5 %, тромбоцитов менее 450·10⁹/л, отсутствие миелоцитов, промиелоцитов, бластов в общем анализе крови. За большой молекулярный ответ (БМО) принято отношение *BCR/ABL* к контрольному гену ≤0,1 % по интернациональной шкале, полный молекулярный ответ (ПМО) – отсутствие транскрипта *BCR/ABL* в двух последовательных исследованиях (чувствительность метода >10⁴). При ПЦО отсутствуют *Ph*⁺ метафазные пластинки [4].

Т а б л и ц а 2. Критерии оценки ответа на лечение иматинибом [рекомендации *European Leukaemia Net*, адаптированные Баккарани и др., 2009, 2013]

T a b l e 2. Criteria for evaluating the response to Imatinib therapy [European Leukaemia Net recommendations adapted by Baccarani et al., 2009, 2013]

| Временная точка | Оптимальный ответ | Субоптимальный ответ | Неудача лечения | Предостерегающие признаки |
|------------------------|--|------------------------------|--|---|
| Исходно | Н. о. | Н. о. | Н. о. | КХА/ <i>Ph</i> ⁺ |
| 3 мес. | ПГО, МЦО <i>BCR/ABL</i> <10 % | Нет МЦО <i>BCR/ABL</i> >10 % | Менее чем ПЦО | Н. о. |
| 6 мес. | По меньшей мере ЧЦО (<i>Ph</i> ⁺ ≤ 35 %) | Менее чем ЧЦО | Нет ЦО | Н. о. |
| 12 мес. | ПЦО | ЧЦО | Менее чем ЧЦО | Менее чем БМО |
| 18 мес. | БМО | Менее чем БМО | Менее чем ПЦО | Н. о. |
| В любой период лечения | Стабильный или нарастающий БМО | Потеря БМО, мутации* | Потеря ПГО, потеря ПЦО, мутации**, КХА/ <i>Ph</i> ⁺ | Повышение уровня транскрипта; КХА/ <i>Ph</i> [–] |

П р и м е ч а н и е. * – мутации киназного домена *BCR/ABL* с сохранением чувствительности к иматинибу, ** – мутации киназного домена *BCR/ABL*, придающие низкую чувствительность к иматинибу, БМО – большой молекулярный ответ, КХА – клональные хромосомные аномалии, МЦО – малый цитогенетический ответ, Н. о. – не определяется, ПГО – полный гематологический ответ, ПЦО – полный цитогенетический ответ, ЧЦО – частичный цитогенетический ответ, ЦО – цитогенетический ответ.

Показатели выживаемости (общая и бессобытийная) рассчитывали с использованием метода Каплана–Майера. При цензурировании общей выживаемости (ОВ) критерием являлось состояние пациента – жив или умер, при цензурировании бессобытийной выживаемости (БСВ) – рост/возврат транскрипта *BCR/ABL*, первичная резистентность (отсутствие гематологического, цитогенетического ответа), отсутствие БМО спустя 4 года терапии. Цензурирование было проведено 01.09.2017 г. Для сравнения выживаемости в группах использовали *Log-rank* критерий. Для расчета кумулятивных частот применяли метод конкурирующих рисков. При сравнении групп пациентов по качественным признакам использовали критерий χ^2 -квадрат. Анализ результатов проводился с помощью программы для статистической обработки данных STATISTICA for Windows 6.0. Различия между сравниваемыми показателями считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. На фоне терапии иматинибом в первой линии ПГО достигнуто у 22 (100 %) пациентов к 3-му месяцу терапии, к 6-му месяцу у одного из них произошла потеря ПГО с дальнейшим развитием бластного криза. На 12-й и 24-й месяцы терапии ответ оценивали только у 20 человек, так как 2 пациента не достигли указанного срока наблюдения. ПЦО наблюдался у 15 (75,0 %) пациентов к 12 мес. Через 2 года у 14 (70,0 %) пациентов констатирован БМО (табл. 3). Время его наступления на протяжении всего периода наблюдения у 82 % пациентов варьировалось от 6 до 48 мес. (рис. 1). При этом отмечено, что, несмотря на длительный период времени от момента наступления ПЦО до БМО, ни у одного из пациентов не отмечалось потери цитогенетического ответа. В течение всего периода наблюдения ПМО достигнуто у 9 (43,0 %) пациентов. При этом сроки его достижения (молекулярная ремиссия) варьировались от 24 до 108 мес. с медианой 48 мес.

Таблица 3. Степень ответа на иматиниб в первой линии лечения детей и подростков 0–17 лет с ХМЛ ($n = 22$)

Table 3. Degree of response to Imatinib in the first line of treatment of children and adolescents at an age of 0–17 years with chronic myeloid leukemia ($n = 22$)

| Ответ | 3 мес. ($n = 22$) | | 6 мес. ($n = 21^*$) | | 12 мес. ($n = 20^{**}$) | | 24 мес. ($n = 20^{**}$) | |
|-------|---------------------|-----|-----------------------|----|---------------------------|----|---------------------------|----|
| | n | % | n | % | n | % | n | % |
| ПГО | 22 | 100 | 20 | 95 | 19 | 95 | 19 | 95 |
| ПЦО | 4 | 18 | 9 | 43 | 15 | 75 | 19 | 95 |
| БМО | – | – | 3 | 14 | 7 | 35 | 14 | 70 |
| ПМО | – | – | – | – | – | – | 1 | 5 |

Примечание. В связи с коротким периодом наблюдения исключены: * – 1 пациент, ** – 2 пациента.

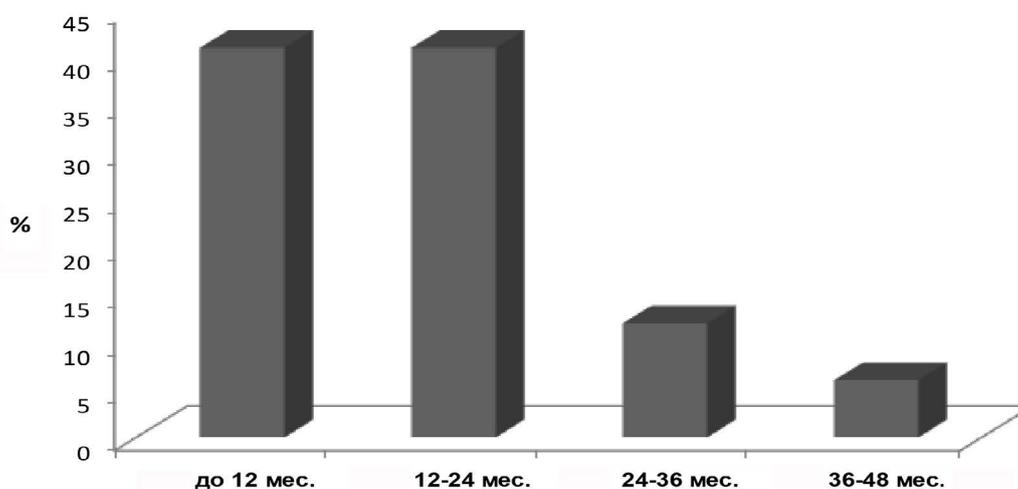


Рис. 1. Распределение пациентов ($n = 17$), достигших БМО на иматиниб в первой линии, по срокам лечения
Fig. 1. Distribution of the patients ($n = 17$) who achieved a large molecular response to Imatinib in the first line by treatment terms

По результатам оценки эффективности иматиниба у 14 (64,0 %) пациентов отмечался оптимальный ответ на лечение, у 7 (32,0 %) – субоптимальный, а у 1 (4,0 %) человека неудачное лечение связано с первичной резистентностью. В группе пациентов с субоптимальным ответом проводилась коррекция терапии, заключающаяся в увеличении дозы иматиниба ($n = 4$) или назначении ИТК второго поколения ($n = 3$). Результаты проводимой коррекции представлены в табл. 4.

Возможность своевременного изменения тактики лечения в результате мониторинга минимальной остаточной болезни (уровень экспрессии *BCR/ABL*) положительно повлияла на результаты лечения – показатели долгосрочной общей и бессобытийной выживаемости составили 92 и 56 % соответственно (рис. 2).

Т а б л и ц а 4. Результаты коррекции терапии ИТК у пациентов с субоптимальным ответом ($n = 7$)
 Table 4. Results of correction of tyrosine kinase inhibitor therapy in patients with a suboptimal response ($n = 7$)

| Пациент | Статус ХМЛ | Вид коррекции терапии | Результат |
|---------|--------------------------------------|----------------------------------|--------------------|
| 1 | Потеря БМО на 36-й месяц | Перевод на ИТК второго поколения | Достижение ПМО |
| 2 | Потеря БМО на 46-й месяц | Перевод на ИТК второго поколения | Восстановление БМО |
| 3 | Потеря БМО на 18-й месяц | Увеличение дозы иматиниба | Достижение ПМО |
| 4 | Потеря БМО на 36-й месяц | Увеличение дозы иматиниба | Восстановление БМО |
| 5 | Потеря БМО на 66-й месяц | Увеличение дозы иматиниба | Восстановление БМО |
| 6 | Отсутствие БМО спустя 4 года терапии | Увеличение дозы иматиниба | Отсутствие эффекта |
| 7 | Отсутствие БМО спустя 4 года терапии | Перевод на ИТК второго поколения | Отсутствие эффекта |

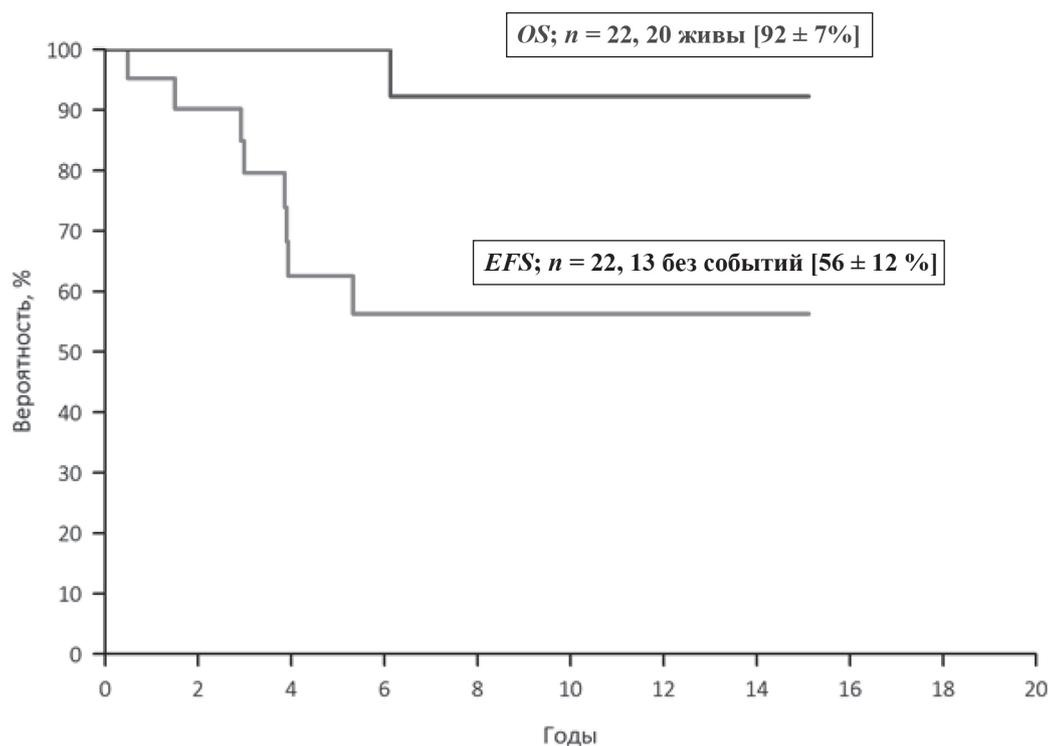


Рис. 2. Общая (OS) и бессобытийная (EFS) выживаемость у детей 0–17 лет с ХМЛ при лечении иматинибом в первой линии

Fig. 2. General (OS) and event-free (EFS) survival in children at an age of 0–17 years with chronic myeloid leukemia treated with Imatinib in the first line

С целью установления связи между вариантом молекулярного транскрипта *BCR/ABL* и ответом на иматиниб в нашем исследовании пациенты ($n = 22$) были разделены на группу 1 ($n = 15$) – пациенты с *b3a2* транскриптом и группу 2 ($n = 7$) – пациенты с *b2a2* транскриптом. В ходе анализа установлено, что оптимальный ответ у пациентов с *b3a2* вариантом транскрипта наблюдался в 73 % случаев, а у пациентов, имеющих *b2a2* транскрипт, – в 29 % случаев ($p = 0,046$). Достижение БМО в более короткие сроки привело к полной молекулярной ремиссии 53 % пациентов с *b3a2* вариантом транскрипта и 14 % лиц с *b2a2* вариантом транскрипта ($p = 0,082$).

По данным литературы, у взрослых пациентов с ХМЛ БМО является важным прогностическим фактором, влияющим на течение заболевания в ходе длительной таргетной терапии [5, 6]. С целью поиска факторов, влияющих на результат терапии ХМЛ у детей, в нашем исследовании проведен анализ корреляции сроков достижения БМО и показателя БСВ. Выполнен сравнительный анализ между результатами лечения пациентов, достигших БМО к 18 мес. терапии иматинибом (БМО+, $n = 10$) и не достигших аналогичного ответа (БМО-, $n = 10$). Из 22 пациентов 2 человека не включены в группу исследования по причине короткого периода наблюдения (менее 18 мес.). Как представлено на рис. 3, показатель БСВ составил 88 % в группе БМО+ и 24 %

в группе БМО– ($p = 0,0127$). Достоверные различия между двумя указанными группами получены также при расчете кумулятивного риска (вероятности) прогрессирования заболевания: 13 % в группе БМО+, 70 % – в группе БМО– ($p = 0,0379$) (рис. 4). При этом не получено достоверных различий между показателями кумулятивной вероятности достижения полной молекулярной ремиссии в группах БМО+ (70 %) и БМО– (30 %) ($p = 0,0736$).

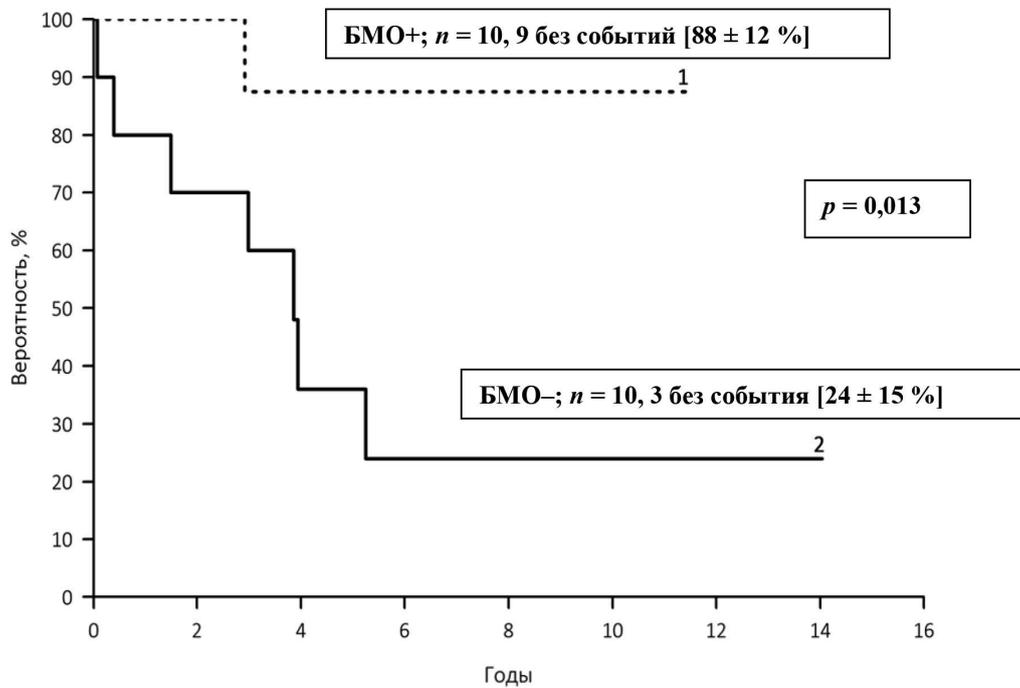


Рис. 3. Бессобытийная выживаемость в группах пациентов, достигших БМО к 18 мес. (БМО+) и не достигших (БМО–)

Fig. 3. Event-free survival in groups of patients who achieved a major molecular response by 18 months (MMR+) and not reached (MMR–)

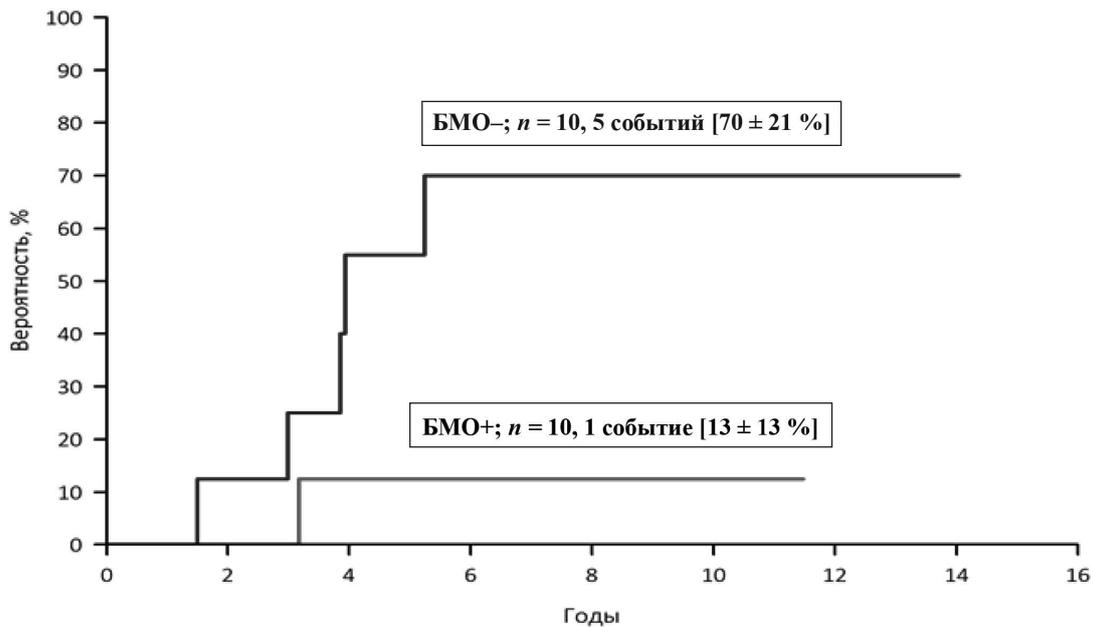


Рис. 4. Кумулятивная частота прогрессирования ХМЛ в группах БМО+ и БМО–

Fig. 4. Cumulative incidence of progression of chronic myeloid leukemia in groups of MMR+ and MMR–

Результаты длительного периода наблюдения (медиана – 84 мес.) пациентов, не достигших ПМО, показали, что в 70 % случаев сохраняется многолетняя клиничко-гематологическая и цитогенетическая ремиссия на фоне приема иматиниба даже при отсутствии полной элиминации опухолевого транскрипта. Установлено также, что достижение оптимального ответа к 18 мес. терапии иматинибом не исключает возможности потери молекулярного ответа в дальнейшем в связи с ростом уровня транскрипта *BCR/ABL*. Так, у 1 из 10 пациентов, достигших БМО к 18 мес., наблюдался рост транскрипта спустя 1,5 года от констатации ответа. И наоборот, у некоторых детей, не достигших оптимального ответа при лечении иматинибом, в дальнейшем отмечалось стойкое снижение уровня транскрипта *BCR/ABL*. В нашем случае 2 пациента с субоптимальным ответом достигли ПМО спустя 36 и 96 мес. соответственно.

Изложенное выше позволяет предположить, что остаточная болезнь, определяемая по количеству *BCR/ABL* позитивных клеток, не является единственным прогностическим фактором в развитии вторичной резистентности к иматинибу. По результатам исследований, у взрослых пациентов установлено, что только сочетание определенного уровня опухолевых клеток с характером приобретенных мутаций гена *BCR/ABL* является решающим прогностическим фактором, определяющим эффективность терапии иматинибом [6]. К основным причинам резистентности ХМЛ у взрослых к терапии ИТК относят точечные мутации киназного домена гена *BCR/ABL* и дополнительные хромосомные aberrации. В нашем исследовании ни у одного из 7 пациентов с субоптимальным ответом не выявлено указанных мутаций.

Заключение. Пациенты 0–17 лет с ХМЛ, диагностированным в хронической фазе, при установлении полного цитогенетического ответа на фоне приема иматиниба имеют высокий шанс достигнуть полной молекулярной ремиссии, наступление которой прогнозируется в разные по отдаленности периоды времени на фоне продолжающейся терапии. На ранних этапах лечения иматинибом важным прогностическим фактором как у взрослых, так и у детей является срок достижения большого молекулярного ответа (снижение *BCR-ABL/ABL* $\leq 0,1$ %). В нашем исследовании показано, что более раннее наступление большого молекулярного ответа достоверно улучшает бессобытийную выживаемость, снижая риск прогрессирования ХМЛ в хронической фазе при лечении детей иматинибом в первой линии.

Многолетнее изучение молекулярных основ ХМЛ позволило обнаружить различные типы гена *BCR/ABL*, основными из которых являются *b3a2* и *b2a2* варианты. В исследуемой группе более чем в 2 раза преобладали пациенты с *b3a2* вариантом. Установлено также, что у пациентов с *b3a2* вариантом транскрипта *BCR/ABL* более благоприятный прогноз в отношении достижения стойкого молекулярного ответа, чем у пациентов с *b2a2* вариантом ($p = 0,046$).

Таким образом, современные молекулярно-биологические методы исследования при ХМЛ позволяют следить за эволюцией опухолевого клона, контролируя уровень экспрессии гена *BCR/ABL*. Это в свою очередь позволяет клиницисту адекватно оценивать эффективность лечения и в случае необходимости своевременно принимать меры для оптимизации терапии (например, повышение дозы иматиниба, переход на терапию ИТК второго поколения, решение о трансплантации костного мозга).

Учитывая относительно небольшое число публикаций по молекулярным основам резистентности к иматинибу у детей с ХМЛ, необходим дальнейший поиск как связанных с геном *BCR/ABL* механизмов, так и не связанных с ним.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Тактика выявления частых и редких типов химерного транскрипта BCR-ABL при хроническом миелоидном лейкозе / О. В. Никулина [и др.] // Клини. онкогематология. Фундам. исслед. и клин. практика. – 2015. – Т. 8, № 2. – С. 161–168.
2. Significance of deeper molecular responses in patients with chronic myeloid leukemia in early chronic phase treated with tyrosine kinase inhibitors / L. Falchi [et al.] // Am. J. Hematol. – 2013. – Vol. 88, N 12. – P. 1024–1029. <https://doi.org/10.1002/ajh.23560>
3. Standardization and quality control studies of ‘real-time’ quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia – a Europe against cancer program / J. Gabert [et al.] // Leukemia. – 2003. – Vol. 17, N 12. – P. 2318–2357. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2403135>

4. European Leukemia Net recommendations for the management of chronic myeloid leukemia / M. Baccarani [et al.] // *Blood*. – 2013. – Vol. 122, N 6. – P. 872–884. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-05-501569>
5. Achieving a major molecular response at the time of a complete cytogenetic response (CCgR) predicts a better duration of CCgR in Imatinib-treated chronic myeloid leukemia patients / I. Iacobucci [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2006. – Vol. 12, N 10. – P. 3037–3042. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-05-2574>
6. Molecular responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase treated with Imatinib Mesylate / J. Cortes [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2005. – Vol. 11, N 9. – P. 3425–3432. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-04-2139>
7. Куцев, С. И. Значение анализа мутаций гена BCR-ABL в оптимизации таргетной терапии хронического миелолейкоза / С. И. Куцев, М. В. Вельченко // *Клин. онкогематология. Фундам. исслед. и клин. практика*. – 2008. – Т. 1, № 3. – С. 190–199.
8. Leukaemia incidence and survival in children and adolescents in Europe during 1978–1997. Report from the Automated Childhood Cancer Information System project / J. W. W. Coebergh [et al.] // *Eur. J. Cancer*. – 2006. – Vol. 42, N 13. – P. 2019–2036. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2006.06.005>
9. Suttorp, M. Chronic myeloid leukemia in children: diagnostics and management / M. Suttorp, J. Tabea Tauer, F. Millot // *Third midsummer meeting on pediatric hematology and oncology, 10–12 June, Liberec / Department of Paediatric Haematology and Oncology [et al.]*. – Prague, 2011. – P. 12–13.
10. Three decades of transplantation for chronic myeloid leukemia: what have we learned? / J. Pavlu [et al.] // *Blood*. – 2011. – Vol. 117, N 3. – P. 755–763. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-08-301341>
11. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial / F.-X. Mahon [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2010. – Vol. 11, N 11. – P. 1029–1035. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(10\)70233-3](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(10)70233-3)
12. Suttorp, M. Treatment of pediatric chronic myeloid leukemia in the year 2010: use of tyrosine kinase inhibitors and stem-cell transplantation / M. Suttorp, F. Millot // *Hematology*. – 2010. – Vol. 2010, N 1. – P. 368–376. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2010.1.368>
13. Wei, G. First-line treatment for chronic myeloid leukemia: dasatinib, nilotinib, or imatinib / G. Wei, S. Rafiyath, D. Liu // *J. Hematol. Oncol.* – 2010. – Vol. 3, N 1. – Art. 47. <https://doi.org/10.1186/1756-8722-3-47>
14. Allogeneic stem cell transplantation for pediatric and adolescent patients with CML: results from the prospective trial CML-Paed I / M. Suttorp [et al.] // *Klinische Pädiatrie*. – 2009. – Vol. 221, N 6. – P. 351–357. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1239529>
15. Molecular mechanisms of resistance to imatinib in Philadelphia-chromosome-positive leukaemias / C. Gambacorti-Passerini [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2003. – Vol. 4, N 2. – P. 75–85. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(03\)00979-3](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(03)00979-3)
16. Management and clinical outcome of CML patients after imatinib resistance associated with ABL kinase domain mutations / S. Kreill [et al.] // *Blood*. – 2003. – Vol. 102, N 11. – P. 71A.
17. Shah, N. Mechanisms of resistance to STI571 in Philadelphia chromosome-associated leukemia / N. Shah, C. Sawyers // *Oncogene*. – 2003. – Vol. 22, N 47. – P. 7389–7395. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206942>
18. High incidence of BCR-ABL kinase domain mutations and absence of mutations of the PDGFR and KIT activation loops in CML patients with secondary resistance to imatinib / H.-K. Al-Ali [et al.] // *Hematology*. – 2004. – Vol. 5, N 1. – P. 55–60. <https://doi.org/10.1038/sj.thj.6200319>
19. Hochhaus, A. Imatinib therapy in chronic myelogenous leukemia: strategies to avoid and overcome resistance / A. Hochhaus, P. La Rosée // *Leukemia*. – 2004. – Vol. 18, N 8. – P. 1321–1331. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2403426>
20. Branford, S. Chronic myeloid leukemia: molecular monitoring in clinical practice / S. Branford // *Hematology*. – 2007. – Vol. 2007, N 1. – P. 376–383. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2007.1.376>
21. Correlation of BCR/ABL transcript variants with patients characteristics in childhood chronic myeloid leukaemia / R. Adler [et al.] // *Eur. J. Haematol.* – 2009. – Vol. 82, N 2. – P. 112–118. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2008.01170.x>

References

1. Nikulina O. V., Tsaur G. A., Riger T. O., Yakovleva Yu. A., Demina A. S., Semenikhina E. R., Spil'nik T. V., Savel'ev L. I., Fechina L. G. Diagnostic strategy for detection of typical and atypical BCR-ABL fusion gene transcripts in chronic myeloid leukemia. *Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaya praktika* [Clinical Oncohematology. Basic Research and Clinical Practice], 2015, vol. 8, no. 2, pp. 161–168 (in Russian).
2. Falchi L., Kantarjian H. M., Wang X., Verma D., Quintás-Cardama A., O'Brien S., Jabbour E. J., Ravandi-Kashani F., Borthakur G., Garcia-Manero G., Verstovsek S., Burger J. A., Luthra R., Cortes J. E. Significance of deeper molecular responses in patients with chronic myeloid leukemia in early chronic phase treated with tyrosine kinase inhibitors. *American Journal of Hematology*, 2013, vol. 88, no. 12, pp. 1024–1029. <https://doi.org/10.1002/ajh.23560>
3. Gabert J., Beillard E., van der Velden V. H. J., Bi W., Grimwade D., Pallisgaard N., Barbany G., Cazzaniga G., Cayuela J. M., Cavé H., Pane F., Aerts J. L. E., De Micheli D., Thirion X., Pradel V., González M., Viehmann S., Malec M., Saglio G., van Dongen J. J. M. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia – a Europe against Cancer Program. *Leukemia*, 2003, vol. 17, no. 12, pp. 2318–2357. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2403135>
4. Baccarani M., Deininger M. W., Rosti G., Hochhaus A., Soverini S., Apperley J. F., Cervantes F., Clark R. E., Cortes J. E., Guilhot F., Hjorth-Hansen H., Hughes T. P., Kantarjian H. M., Kim D.-W., Larson R. A., Lipton J. H., Mahon F.-X., Martinelli G., Mayer J., Muller M. C., Niederwieser D., Pane F., Radich J. P., Rousselot P., Saglio G., Saussele S., Schiffer C., Silver R.,

Simonsson B., Steegmann J.-L., Goldman J. M., Hehlmann R. European Leukemia Net recommendations for the management of chronic myeloid leukemia. *Blood*, 2013, vol. 122, no. 6, pp. 872–884. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-05-501569>

5. Iacobucci I., Saglio G., Rosti G., Testoni N., Pane F., Amabile M., Poerio A., Soverini S., Bassi S., Cilloni D., Bassan R., Breccia M., Lauria F., Izzo B., Merante S., Frassoni F., Paolini S., Montefusco E., Baccarani M., Martinelli G. Achieving a major molecular response at the time of a complete cytogenetic response (CCgR) predicts a better duration of CCgR in Imatinib-treated chronic myeloid leukemia patients. *Clinical Cancer Research*, 2006, vol. 12, no. 10, pp. 3037–3042. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-05-2574>

6. Cortes J., Talpaz M., O'Brien S., Jones D., Luthra R., Shan J., Giles F., Faderl S., Verstovsek S., Garcia-Manero G., Rios M. B., Kantarjian H. Molecular responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase treated with Imatinib Mesylate. *Clinical Cancer Research*, 2005, vol. 11, no. 9, pp. 3425–3432. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-04-2139>

7. Kutsev S., Vel'chenko M. The role of BCR-ABL gene mutation analysis in the optimization of target therapy of chronic myeloid leukemia. *Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaya praktika* [Clinical oncology. basic research and clinical practice], 2008, vol. 1, no. 3, pp. 190–199 (in Russian).

8. Coebergh J. W. W., Reedijk A. M. J., de Vries E., Martos C., Jakab Z., Steliarova-Foucher E., Kamps W. A. Leukaemia incidence and survival in children and adolescents in Europe during 1978–1997. Report from the Automated Childhood Cancer Information System Project. *European Journal of Cancer*, 2006, vol. 42, no. 13, pp. 2019–2036. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2006.06.005>

9. Suttorp M., Tabea Tauer J., Millot F. Chronic myeloid leukemia in children: diagnostics and management. *Third mid-summer meeting on pediatric hematology and oncology, 10–12 June, Liberec*. Prague, 2011, pp. 12–13.

10. Pavlu J., Szydlo R. M., Goldman J. M., Apperley J. F. Three decades of transplantation for chronic myeloid leukemia: what have we learned? *Blood*, 2011, vol. 117, no. 3, pp. 755–763. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-08-301341>

11. Mahon F.-X., Réa D., Guilhot J., Hugué F., Nicolini F., Legros L., Charbonnier A., Guerci A., Varet B., Etienne G., Reiffers J., Rousselot P. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncology*, 2010, vol. 11, no. 11, pp. 1029–1035. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(10\)70233-3](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(10)70233-3)

12. Suttorp M., Millot F. Treatment of pediatric chronic myeloid leukemia in the year 2010: use of tyrosine kinase inhibitors and stem-cell transplantation. *Hematology*, 2010, vol. 2010, no. 1, pp. 368–376. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2010.1.368>

13. Wei G., Rafiyath S., Liu D. First-line treatment for chronic myeloid leukemia: dasatinib, nilotinib, or imatinib. *Journal of Hematology and Oncology*, 2010, vol. 3, no. 1, art. 47. <https://doi.org/10.1186/1756-8722-3-47>

14. Suttorp M., Claviez A., Bader P., Peters C., Gardner H., Ebell W., Dilloo D., Kremens B., Kabisch H., Führer M., Zintl F., Göbel U., Klingebiel T. Allogeneic stem cell transplantation for pediatric and adolescent patients with CML: results from the prospective trial CML-Paed I. *Klinische Pädiatrie*, 2009, vol. 221, no. 6, pp. 351–357. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1239529>

15. Gambacorti-Passerini C., Gunby R., Piazza R., Galiotta A., Rostagno R., Scapozza L. Molecular mechanisms of resistance to imatinib in Philadelphia-chromosome-positive leukaemias. *Lancet Oncology*, 2003, vol. 4, no. 2, pp. 75–85. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(03\)00979-3](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(03)00979-3)

16. Kreil S., Mueller M. C., Hanfstein B., La Rosee P., Lahaye T., Hehlmann R., Hochhaus A. Management and clinical outcome of CML patients after imatinib resistance associated with ABL kinase domain mutations. *Blood*, vol. 102, no. 11, p. 71A.

17. Shah N., Sawyers C. Mechanisms of resistance to STI571 in Philadelphia chromosome-associated leukemia. *Oncogene*, 2003, vol. 22, no. 47, pp. 7389–7395. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206942>

18. Al-Ali H., Heinrich M. Ch., Lange T., Krahl R., Mueller M., Müller C., Niederwieser D., Druker B. J., Deininger M. W. N. High incidence of BCR-ABL kinase domain mutations and absence of mutations of the PDGFR and KIT activation loops in CML patients with secondary resistance to imatinib. *Hematology Journal*, 2004, vol. 5, no. 1, pp. 55–60. <https://doi.org/10.1038/sj.thj.6200319>

19. Hochhaus A., La Rosée P. Imatinib therapy in chronic myelogenous leukemia: strategies to avoid and overcome resistance. *Leukemia*, 2004, vol. 18, no. 8, pp. 1321–1331. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2403426>

20. Branford S. Chronic myeloid leukemia: molecular monitoring in clinical practice. *Hematology*, 2007, vol. 2007, no. 1, pp. 376–383. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2007.1.376>

21. Adler R., Viehmann S., Kuhlisch S., Martiniak Y., Harbott S. R. J., Suttorp M. Correlation of BCR/ABL transcript variants with patients characteristics in childhood chronic myeloid leukaemia. *European Journal of Haematology*, 2009, vol. 82, no. 2, pp. 112–118. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2008.01170.x>

Информация об авторе

Борисевич Марина Владимировна – заместитель директора по организационно-методической работе. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: borisevich10@mail.ru

Information about the author

Marina V. Borisevich – deputy director for organizational and methodological work. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., v. Borovliany, 223053, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: borisevich10@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.61-006.6:616-089.168.1-06(476)

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-315-322>

Поступила в редакцию 22.03.2018

Received 22.03.2018

Л. Н. Суслов, О. Г. Суконко, Л. В. Мириленко

*Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии
им. Н. Н. Александрова, агр. Лесной, Минский район, Республика Беларусь*

ГРУППЫ РИСКА РАЗВИТИЯ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ ЕДИНСТВЕННОЙ ПОЧКИ

Аннотация. Наиболее частым осложнением при резекции единственной почки является острая почечная недостаточность (ОПН). Настоящее исследование посвящено разработке прогностической классификации, основанной на дооперационных показателях и определяющей риск развития ОПН в послеоперационном периоде для пациентов после резекции единственной почки (ЕП), что позволит выявить лиц группы высокого риска и скорректировать тактику их лечения.

Согласно критериям включения, в настоящее исследование отобрано 136 пациентов с опухолью ЕП, прооперированных в отделении онкоурологии РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова за 2000–2016 гг.

В течение раннего послеоперационного периода ОПН была зарегистрирована у 28 (20,6 %) пациентов. В мультивариантный анализ риска развития ОПН были включены три показателя, статистически значимо связанных с риском развития ОПН в послеоперационном периоде: категоризированные показатели – размер опухоли и сывороточный калий и дихотомический – мультифокальность. На основании представленной мультивариантной модели каждому уровню из вошедших в нее трех показателей присвоен балльный весовой коэффициент. В зависимости от суммы баллов вся когорта пациентов была разделена на три группы: низкого (от 0 до 2 баллов), промежуточного (3 балла) и высокого (4 балла и более) риска развития ОПН в послеоперационном периоде.

Разработанная прогностическая классификация позволяет на дооперационном этапе с прогностической точностью 82,3 % определить риск развития ОПН после резекции ЕП. В группе низкого риска вероятность развития ОПН после операции составляет 5,6 %, в группе промежуточного риска – 22,9, в группе высокого риска – 68,2 % ($p < 0,001$).

Ключевые слова: рак почки, единственная почка, хирургическое лечение, острая почечная недостаточность, скорость клубочковой фильтрации

Для цитирования: Суслов, Л. Н. Группы риска развития острой почечной недостаточности у пациентов после хирургического лечения опухолей единственной почки / Л. Н. Суслов, О. Г. Суконко, Л. В. Мириленко // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 315–322. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-315-322>

L. N. Suslov, O. G. Sukonko, L. V. Mirilenko

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

RISK GROUPS OF ACUTE KIDNEY INJURY IN PATIENTS AFTER OPERATIVE THERAPY OF TUMORS OF A SOLITARY KIDNEY

Abstract. The most frequent complication of solitary kidney partial nephrectomy is an acute kidney injury (AKI). The objective of this study is to devise a prognostic classification of AKI in the postoperative period based on preoperative factors for patients after partial nephrectomy for renal masses in the solitary kidney (SK). This method will allow identifying patients in a high risk group and reducing this unfavorable postoperative outcome by a careful treatment planning.

We present a series of 136 patients with SK tumor who underwent open partial nephrectomy in situ performed at the N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus in 2000–2016.

During the early postoperative period, AKI occurred in 28 (20.6 %) patients. Three risk factors associated with a risk of developing AKI were included in the multivariate analysis: categorized risk factors such as tumor size and serum potassium and dichotomous – multifocality. On the basis of the multivariate model presented, 3 risk factors were assigned a weighted score. Depending on the score, the cohort of patients was divided into 3 groups. Patients with a score from 0 to 2 were classified as a low-risk group, 3 points – an intermediate-risk group and ≥ 4 points – a high-risk group with the development of AKI in the postoperative period.

The devised prognostic classification allows one during the preoperative period with a predictive accuracy of 82.3 % to determine a risk of development of AKI after partial nephrectomy of SK. In the low-risk group, the probability of developing AKI after surgery is 5.6 %, in the intermediate-risk group – 2.9 %, in the high-risk group – 68.2 % ($p < 0.001$).

Keywords: renal cell carcinoma, solitary kidney, operative therapy, acute kidney injury, glomerular filtration rate

For citation: : Suslov L. N., Sukonko O. G., Mirilenko L. V. Risk groups of acute kidney injury in patients after operative therapy of tumors of a solitary kidney. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 315–322 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-315-322>

Введение. Учитывая, что рак почки отличается химио- и радиорезистентностью, хирургическое лечение остается золотым стандартом в лечении данной патологии. В соответствии со стандартами лечения Республики Беларусь вид оперативного вмешательства определяется степенью распространенности опухолевого процесса: при наличии двух функционирующих почек возможно применение как резекции, так и нефрэктомии, а у пациентов с опухолями единственной почки по абсолютным показаниям выполняется резекция. Наиболее частым осложнением при резекции единственной почки (ЕП) является острая почечная недостаточность (ОПН), развивающаяся в первые дни послеоперационного периода и увеличивающая риск смерти [1, 2]. Оценка риска развития ОПН на дооперационном этапе позволит выявить пациентов группы высокого риска и скорректировать тактику лечения.

Цель настоящего исследования – разработка прогностической классификации, основанной на дооперационных показателях и определяющей риск развития острой почечной недостаточности в послеоперационном периоде для пациентов после резекции единственной почки.

Материалы и методы исследования. *Материалы.* Из базы данных 145 пациентов, прооперированных с августа 2000 г. по апрель 2016 г. по поводу опухолей ЕП, согласно критериям включения в настоящее исследование было отобрано 136 пациентов – 83 (61,0 %) мужчины и 53 (39,0 %) женщины. Характеристика пациентов приведена в табл. 1.

Резекция почки по поводу почечно-клеточного рака (ПКР) была выполнена 128 (94,1 %) пациентам, по поводу доброкачественных новообразований – 8 (5,9 %). У 4 (2,9 %) человек ранее была выполнена резекция ЕП, в том числе у 1 (0,7 %) пациента дважды и у 1 (0,7 %) резекции почки предшествовала дважды выполненная радиочастотная абляция с эмболизацией сосудов опухоли.

Всем 136 пациентам была выполнена резекция ЕП *in situ*. Размер опухоли находился в пределах от 1 до 10 см, медиана составила 3,9 см. У 108 (79,9 %) пациентов диагностировано по одной опухоли, у 28 (20,1 %) – несколько (от 2 до 13) опухолей ЕП.

Методы. Функциональные результаты заключались в расчете скорости клубочковой фильтрации (СКФ) в мл/мин/1,73 м² с использованием формулы Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) [3]. Развитие ОПН, согласно классификации RIFLE, соответствовало категории «F»: увеличение сывороточного креатинина в 3 раза от исходного значения, или его подъем до >354 мкмоль/л с увеличением на >44 мкмоль/л, или снижение СКФ на >75 % [2].

Для статистического анализа использовали как качественные (пол, наличие мультифокальности, наличие симптомов), так и количественные (возраст, размер опухоли, СКФ, индекс массы тела, лабораторные показатели) показатели, полученные на дооперационном этапе. Отбор предикторов мультивариантной модели проводили на основании моновариантного анализа бинарной логистической регрессии, в который поочередно были включены все указанные показатели. Количественные показатели, имеющие при моновариантном анализе статистически значимую взаимосвязь с развитием ОПН, категоризировали с помощью Cut Point-анализа. На основании коэффициентов, полученных в мультивариантном анализе, были установлены числовые весовые коэффициенты (баллы) для всех категорий переменных, статистически значимо связанных с наличием прогнозируемого события. В зависимости от суммы баллов все пациенты были разделены на три группы – с благоприятным, промежуточным и неблагоприятным прогнозом развития ОПН. Точность полученной модели оценивали с помощью индекса конкордации (C-index). Скорректированный C-индекс с поправкой на «чрезмерный оптимизм» рассчитан как среднее значение C-индексов, определенных на 200 наборах данных, полученных из исходного набора путем «случайной выборки с возвращением».

Таблица 1. Характеристика пациентов
Table 1. Characteristics of patients

| Показатель | К-во пациентов | |
|--|----------------|------|
| | абс. | % |
| Пол: | | |
| женщины | 53 | 39,0 |
| мужчины | 83 | 61,0 |
| Симптомы заболевания: | | |
| есть | 22 | 16,2 |
| нет | 114 | 83,8 |
| Сторона поражения: | | |
| правая | 74 | 54,4 |
| левая | 62 | 55,6 |
| Диагноз: | | |
| синхронный билатеральный ПКР | 16 | 11,8 |
| метахронный билатеральный ПКР | 75 | 55,1 |
| врожденная ЕП: | | |
| ПКР | 12 | 8,8 |
| доброкачественная опухоль | 2 | 1,5 |
| опухоль анатомически или функционально приобретенной ЕП: | | |
| ПКР | 25 | 18,4 |
| доброкачественная опухоль | 6 | 4,4 |
| Контралатеральная нефрэктомия, причины: | | |
| злокачественные опухоли, в том числе: | | |
| ПКР | 95 | 69,9 |
| другие | 3 | 2,2 |
| другие причины | 24 | 17,6 |
| врожденная ЕП | 14 | 10,3 |
| Длительность статуса ЕП: | | |
| <1 года | 16 | 11,8 |
| 1–5 лет | 27 | 19,8 |
| >5 лет | 84 | 61,8 |
| невозможно оценить | 9 | 6,6 |
| Рецидивные опухоли | 5 | 3,7 |

Во всех случаях различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Все значения p были двусторонними. Расчеты выполнены в программном комплексе SPSS 23.0.

Результаты и их обсуждение. В течение раннего послеоперационного периода у 39 (28,7 %) пациентов, согласно классификации Clavien–Dindo [4], было зафиксировано 65 осложнений различной степени тяжести, распределение которых представлено в табл. 2.

Таблица 2. Осложнения раннего послеоперационного периода по классификации Clavien–Dindo
Table 2. Complications of the early postoperative period according to Clavien–Dindo classification

| Показатель | Степень осложнения | | | | Всего, абс. (%) |
|---|--------------------|----|----|------|-----------------|
| | 1-2 | 3a | 3b | 4a-b | |
| Нагноение послеоперационной раны | 1 | – | – | – | 1 (1,5) |
| Сепсис | 1 | – | – | – | 1 (1,5) |
| Периренальный абсцесс | – | 2 | – | – | 2 (3,1) |
| Острый пиелонефрит | 1 | 1 | – | – | 2 (3,1) |
| Пневмония | 1 | – | – | 1 | 2 (3,1) |
| Кровоточия, требующая гемотрансфузии | 18 | – | – | – | 18 (27,7) |
| Макрогематурия | – | 1 | 1 | – | 2 (3,1) |
| Острая язва желудка | – | 1 | – | – | 1 (1,5) |
| Острая язва, сопровождающаяся кровотечением | – | 3 | – | – | 3 (4,6) |
| Толстокишечный свищ | – | – | 1 | – | 1 (1,5) |
| Мочевой затек | – | 3 | – | – | 3 (4,6) |
| Тонкокишечная непроходимость | – | – | 1 | – | 1 (1,5) |
| ОПН | 19 | – | – | 9 | 28 (43,1) |
| Итого | 41 | 11 | 3 | 10 | 65 (100) |

Как представлено в табл. 2, ОПН была зарегистрирована у 28 (20,6 %) из 136 пациентов, что соответствует литературным данным [5, 6]. Средний уровень СКФ в раннем послеоперационном периоде составил 29 ± 15 мл/мин/1,73 м², а степень ее снижения – 49 ± 23 %.

Для прогнозирования развития ОПН в послеоперационном периоде была использована модель бинарной логистической регрессии. Результаты моновариантного анализа для всех показателей, определенных на дооперационном этапе, представлены в табл. 3.

Т а б л и ц а 3. Моновариантные модели логистической регрессии
T a b l e 3. Monovariant logistic regression models

| Показатель | Параметры моновариантной модели | |
|---|---------------------------------|-----------|
| | Отношение шансов (95 % ДИ) | p-уровень |
| Мужчины/женщины | 1,79 (0,72–4,41) | 0,21 |
| Возраст | 0,98 (0,93–1,02) | 0,33 |
| Размер опухоли, см | 1,42 (1,12–1,81) | 0,004 |
| Количество опухолей | 1,38 (1,06–1,80) | 0,016 |
| Мультифокальность | 3,46 (1,38–8,68) | < 0,001 |
| Статус ЕП, мес. (n = 101) | 1,002 (0,997–0,007) | 0,50 |
| Наличие/отсутствие диабета | 1,46 (0,48–4,47) | 0,51 |
| Наличие/отсутствие симптомов | 2,07 (0,45–5,70) | 0,16 |
| Индекс массы тела, кг/м ² | 1,03 (0,97–1,09) | 0,39 |
| СКФ до операции, мл/мин/1,73 м ² | 0,997 (0,969–1,025) | 0,81 |
| Эритроциты, $\times 10^{12}/л$ | 0,85 (0,38–1,89) | 0,69 |
| Гемоглобин, г/л | 0,99 (0,97–1,02) | 0,53 |
| Лейкоциты, $\times 10^9/л$ | 1,02 (0,88–1,18) | 0,84 |
| Тромбоциты, $\times 10^9/л$ | 1,002 (0,997–1,008) | 0,38 |
| СОЭ, мм/ч | 1,02 (0,99–1,05) | 0,14 |
| Мочевина, ммоль/л | 1,10 (0,93–1,30) | 0,28 |
| Креатинин, мкмоль/л | 1,006 (0,996–1,016) | 0,23 |
| Билирубин, мкмоль/л | 0,99 (0,94–1,05) | 0,83 |
| Общий белок, г/л | 1,02 (0,94–1,10) | 0,65 |
| Сывороточный калий крови, ммоль/л | 2,74 (1,10–6,84) | 0,031 |
| Белок мочи, г/л | 2,69 (0,54–13,53) | 0,23 |

Как показано в табл. 3, статистически значимую взаимосвязь с развитием ОПН имели следующие показатели: размер опухоли, наличие мультифокальности, количество опухолей, уровень сывороточного калия крови. Однако показатель «мультифокальность» является производным от показателя «количество опухолей», поэтому в мультивариантный анализ был включен один из них – мультифокальность, поскольку он имел более высокий уровень значимости при моновариантном анализе и проще для последующего использования в мультивариантной модели.

Для того чтобы использовать количественные показатели «размер опухоли» и «уровень сывороточного калия крови» в разрабатываемой дооперационной классификации по степени риска развития ОПН у пациентов с опухолями ЕП, эти показатели были категоризированы с использованием Cut Point-анализа.

На рис. 1, 2 показаны графики зависимости статистики Вальда, полученные в результате моновариантного анализа бинарной логистической регрессии при всех значениях точки разделения показателей размера опухоли и сывороточного калия крови на две группы.

Оптимальные значения размера опухоли для разделения на группы, максимально различающиеся по риску развития ОПН, – 3,6 и 5,2 см; для сывороточного калия крови – 4,4 и 4,8 ммоль/л. В табл. 4 представлены параметры моновариантных моделей прогнозирования ОПН по категоризированным показателям.

Необходимо подчеркнуть, что категоризированные показатели «размер опухоли» и «сывороточный калий крови» дают лучшую прогностическую точность, определяемую C-индексом, в сравнении с количественным представлением этих показателей – 70,8 % против 69,3% и 68,8 % против 66,2 % соответственно.

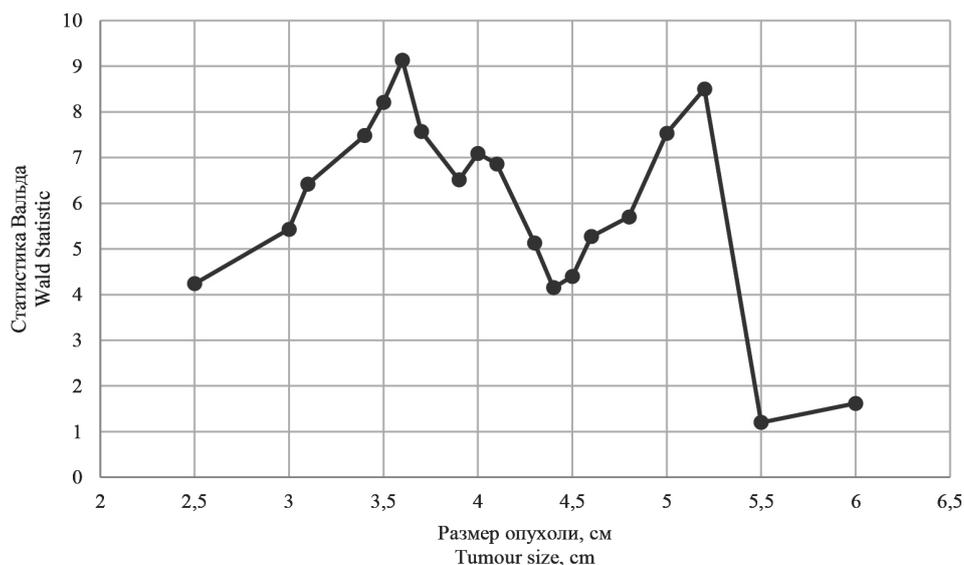


Рис. 1. Cut Point-анализ для размера опухоли

Fig. 1. Cut Point analysis for the tumour size

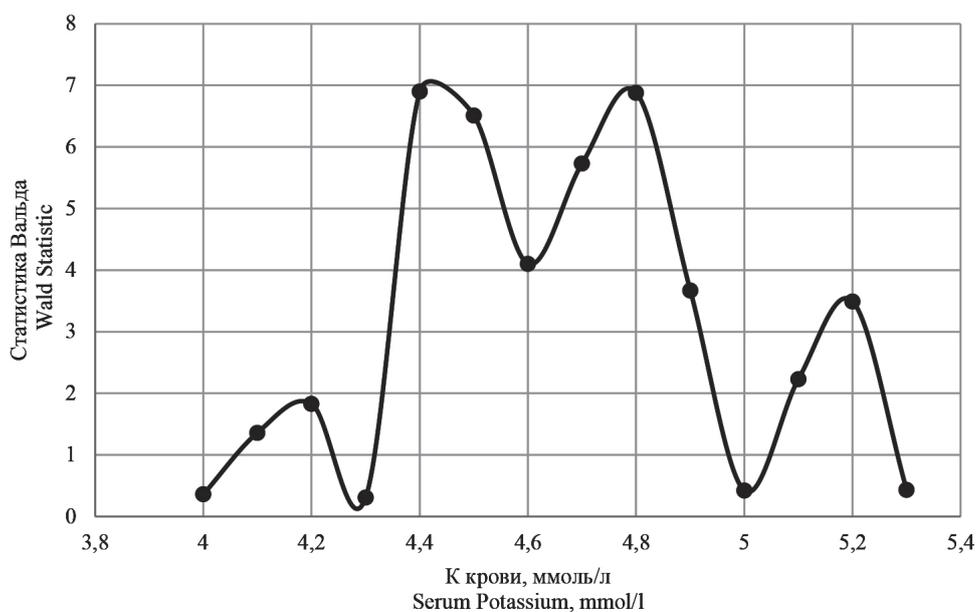


Рис. 2. Cut Point-анализ для калия крови

Fig. 2. Cut Point analysis for serum potassium

Т а б л и ц а 4. Параметры моновариантных моделей

Т a b l e 4. Parameters of the univariant models

| Показатель | Параметры моновариантной модели | |
|------------------------------------|---------------------------------|-------------------|
| | Отношение шансов (95 % ДИ) | <i>p</i> -уровень |
| Размер опухоли, см: | | |
| >5,2/3,7–5,2/≤3,6 | – | 0,003 |
| 3,7–5,2/≤3,6 | 3,63 (1,18–11,2) | 0,024 |
| >5,2/≤3,6 | 8,21 (2,47–27,3) | 0,001 |
| Сывороточный калий крови, ммоль/л: | | |
| >4,8/4,5–4,8 /≤4,4 | – | 0,016 |
| 4,5–4,8/≤4,4 | 5,24 (1,03–26,6) | 0,045 |
| >4,8/≤4,4 | 9,23 (1,99–42,9) | 0,005 |

В мультивариантный анализ были включены три показателя, статистически значимо связанные с риском развития ОПН в послеоперационном периоде: категоризированные показатели – размер опухоли и сывороточный калий и дихотомический – мультифокальность (табл. 5).

Т а б л и ц а 5. **Параметры мультивариантной модели**
T a b l e 5. **Parameters of the multivariant model**

| Показатель | Параметры мультивариантной модели | | |
|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|-------------------|
| | Коэффициент β | Отношение шансов (95 % ДИ) | <i>p</i> -уровень |
| Размер опухоли, см: | | | |
| >5,2/3,7–5,2/≤3,6 | – | – | 0,005 |
| 3,7–5,2/≤3,6 | 1,34 | 3,82 (1,00–14,5) | 0,049 |
| >5,2/≤3,6 | 2,49 | 12,0 (2,69–53,6) | 0,001 |
| Сывороточный калий крови, ммоль/л: | | | |
| >4,8/4,5–4,8/≤4,4 | – | – | 0,028 |
| 4,5–4,8/≤4,4 | 1,57 | 4,80 (0,85–27,0) | 0,075 |
| >4,8/≤4,4 | 2,23 | 9,26 (1,77–48,5) | 0,008 |
| Мультифокальность: да/нет | 2,14 | 8,50 (2,42–29,9) | 0,001 |

Полученная мультивариантная прогностическая модель характеризуется высокой прогностической точностью – 84,8 % (95 % ДИ 76,3–93,3).

На основании представленной мультивариантной модели каждому уровню из вошедших в нее трех показателей присвоен балльный весовой коэффициент (табл. 6).

Т а б л и ц а 6. **Весовые коэффициенты для расчета риска развития ОПН, балл**
T a b l e 6. **Weights for calculating the risk of developing acute renal failure, score**

| Показатель | Весовой коэффициент для расчета риска ОПН |
|------------------------------------|---|
| Размер опухоли, см: | |
| ≤3,6 | 0 |
| 3,7–5,2 | 1 |
| >5,2 | 2 |
| Мультифокальность: | |
| нет | 0 |
| есть | 2 |
| Сывороточный калий крови, ммоль/л: | |
| ≤4,4 | 0 |
| 4,5–4,8 | 1 |
| >4,8 | 2 |

Общая сумма баллов для каждого пациента рассчитывается путем сложения соответствующих баллов и может находиться в пределах от 0 до 6.

В зависимости от суммы баллов вся когорта пациентов была разделена на три группы: низкого (от 0 до 2 баллов), промежуточного (3 балла) и высокого (4 балла и более) риска развития ОПН в послеоперационном периоде (табл. 7).

Т а б л и ц а 7. **Вероятность развития ОПН в группах риска**
T a b l e 7. **Probability of development of acute renal failure in risk groups**

| Сумма баллов | К-во пациентов (%) | Вероятность развития ОПН, % (95 % ДИ) |
|--------------|--------------------|---------------------------------------|
| 0–2 | 72 (55,8) | 5,6 (1,5–13,6) |
| 3 | 35 (27,1) | 22,9 (10,4–40,1) |
| 4–6 | 22 (17,1) | 68,2 (45,13–86,1) |

В группе низкого риска вероятность развития ОПН составляет 5,6 %, в группе высокого – 68,2 %. Необходимо отметить, что различия между рисками развития ОПН были статистически значимы как при сравнении трех групп одновременно ($p < 0,001$), так и при их попарном сравне-

нии. Также следует подчеркнуть, что в группу низкого риска вошли более половины всех пациентов (55,8 %), а в группу высокого – всего 17,1 %.

Прогностическая точность разработанных групп риска (С-индекс) составляет 82,3 % (95 % ДИ 72,7–91,8), что является очень высоким показателем для группового прогноза. Внутренняя валидизация разработанной классификации проведена методом бутстрэп на 200 наборах данных, полученных из исходного набора путем случайной выборки с возвращением. Бутстрэп-скорректированная прогностическая точность составила 82,34 %, т. е. практически совпадает с точностью, рассчитанной для исследуемой группы.

Таким образом, разработана классификация, позволяющая по дооперационным данным с высокой прогностической точностью определить вероятность развития ОПН у пациентов с опухолью ЕП в послеоперационном периоде.

Заключение. Дооперационными факторами прогноза риска развития ОПН в послеоперационном периоде у пациентов после резекции ЕП являются: размер опухоли, количество опухолей, мультифокальность и сывороточный калий крови. Точками разделения пациентов на группы, максимально различающиеся по риску развития ОПН, для количественных показателей являются: для размера опухоли – 3,6 и 5,2 см, для уровня сывороточного калия крови – 4,4 и 4,8 ммоль/л.

Разработанная прогностическая классификация позволяет на дооперационном этапе с высокой прогностической точностью (82,3 %) определить риск развития ОПН после резекции. В группе низкого риска, в которую входят более половины пациентов исследуемой категории, вероятность развития ОПН после операции составляет 5,6 %, в группе промежуточного риска – 22,9, в группе высокого риска – 68,2 % ($p < 0,001$).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: a prospective cohort study / A. Lassnigg [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2004. – Vol. 15, N 6. – P. 1597–1605. <https://doi.org/10.1097/01.asn.0000130340.93930.dd>
2. An assessment of the RIFLE criteria for acute renal failure in hospitalized patients / S. Uchino [et al.] // *Critical Care Medicine.* – 2006. – Vol. 34, N 7. – P. 1913–1917. <https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000224227.70642.4f>
3. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group / A. S. Levey [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 1999. – Vol. 130, N 6. – P. 461–470. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-130-6-199903160-00002>
4. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey / D. Dindo [et al.] // *Ann. Surg.* – 2004. – Vol. 240, N 2. – P. 205–213. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000133083.54934.ae>
5. Renal cell carcinoma in the solitary kidney: an analysis of complications and outcome after nephron sparing surgery / R. Ghavamian [et al.] // *J. Urol.* – 2002. – Vol. 168, N 2. – P. 454–459. [https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(05\)64657-5](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(05)64657-5)
6. Comparison of cold and warm ischemia during partial nephrectomy in 660 solitary kidneys reveals predominant role of nonmodifiable factors in determining ultimate renal function / B. R. Lane [et al.] // *J. Urol.* – 2011. – Vol. 185, N 2. – P. 421–427. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2010.09.131>

References

1. Lassnigg A., Schmidlin D., Mouhieddine M., Bachmann L. M., Druml W., Bauer P., Hiesmayr M. Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: a prospective cohort study. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2004, vol. 15, pp. 1597–1605. <https://doi.org/10.1097/01.asn.0000130340.93930.dd>
2. Uchino S., Bellomo R., Goldsmith D., Bates S., Ronco C. An assessment of the RIFLE criteria for acute renal failure in hospitalized patients. *Critical Care Medicine*, 2006, vol. 34, no. 7, pp. 1913–1917. <https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000224227.70642.4f>
3. Levey A. S., Bosch J. P., Lewis J. B., Greene T., Rogers N., Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Annals of Internal Medicine*, 1999, vol. 130, no. 6, pp. 461–470. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-130-6-199903160-00002>
4. Dindo D., Demartines N., Clavien P. A. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Annals of Surgery*, 2004, vol. 240, no. 2, pp. 205–213. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000133083.54934.ae>

5. Ghavamian R., Chevillat J. C., Lohse C. M., Weaver A. L., Zincke H., Blute M. L. Renal cell carcinoma in the solitary kidney: an analysis of complications and outcome after nephron sparing surgery. *Journal of Urology*, 2002, vol. 168, no. 2, pp. 454–459. [https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(05\)64657-5](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(05)64657-5)

6. Lane B. R., Russo P., Uzzo R. G., Hernandez A. V., Boorjian S. A., Thompson R. H., Fergany A. F., Love T. E., Campbell S. C. Comparison of cold and warm ischemia during partial nephrectomy in 660 solitary kidneys reveals predominant role of nonmodifiable factors in determining ultimate renal function. *Journal of Urology*, 2011, vol. 185, no. 2, pp. 421–427. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2010.09.131>

Информация об авторах

Суслов Леонид Николаевич – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: Leonid.n.suslov@gmail.com

Суконко Олег Григорьевич – д-р мед. наук, профессор, директор. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: OncoBel@omr.by

Мириленко Людмила Владимировна – специалист группы анализа и статистики. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: ludamirilen@gmail.com

Information about the authors

Leonid N. Suslov – researcher. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: Leonid.n.suslov@gmail.com

Oleg G. Sukonko – D. Sc. (Med.), Professor, Director. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: OncoBel@omr.by

Ludmila V. Mirilenko – Specialist of the Analysis and Statistics Group. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: ludamirilen@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.831-006.487-097-085.371:577.213.32

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-323-330>

Поступила в редакцию 09.09.2017

Received 09.09.2017

М. В. Стёганцева, В. А. Шинкевич, Е. П. Вашкевич, Т. М. Михалевская, А. Н. Мелешко

*Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии,
д. Боровляны, Республика Беларусь*

ПОЛИЭТИЛЕНИМИН УСИЛИВАЕТ ИММУНОГЕННОСТЬ ДНК-ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ ГЕНА ТИРОЗИНГИДРОКСИЛАЗЫ В МЫШИНОЙ МОДЕЛИ НЕЙРОБЛАСТОМЫ

Аннотация. Нейробластома – самая распространенная детская солидная опухоль с плохим прогнозом на IV стадии заболевания. Характерным маркером нейробластомы является высокая экспрессия тирозингидроксилазы (ТГ).

ДНК-вакцинация является сопутствующим методом терапии онкологических заболеваний, которые характеризуются высокой вероятностью достижения ремиссии и риском последующего рецидива.

Нами проведена ДНК-вакцинация мышей линии А/Ж с использованием конструкции ТГ в качестве опухолевого антигена. Для доставки вакцины применяли синтетический носитель полиэтиленимин (ПЭИ). Показано, что конъюгирование ДНК-вакцины с ПЭИ увеличивает эффективность разработанной вакцины, что проявляется в замедлении опухолевой прогрессии и активации клеточного ответа, включающего цитотоксический Т-клеточный ответ и продукцию гамма-интерферона.

Ключевые слова: ДНК-вакцины, нейробластома, тирозингидроксилаза, иммуногенность, полиэтиленимин

Для цитирования: Полиэтиленимин усиливает иммуногенность ДНК-вакцины на основе гена тирозингидроксилазы в мышинной модели нейробластомы / М. В. Стёганцева [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. наук. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 323–330. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-323-330>

M. V. Stegantseva, V. A. Shinkevich, K. P. Vashkevich, T. M. Mikhaleuskaya, A. N. Meleshko

*Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology,
v. Borovliany, Minsk Region, Republic of Belarus*

POLYETHYLENIMINE INCREASES THE IMMUNOGENICITY OF DNA-VACCINE BASED ON THE THYROSINE HYDROXYLASE GENE IN THE MOUSE MODEL OF NEUROBLASTOMA

Abstract. Neuroblastoma is one of the most common solid tumors in children with a poor prognosis at the IV stage. A common marker of neuroblastoma is a high expression of tyrosine hydroxylase.

DNA vaccination is a concomitant method of treatment of oncological diseases that are characterized by a high probability of long-term remission and a risk of subsequent relapse.

We performed the DNA vaccination of A/J mice using a tyrosine hydroxylase (TH) design as a tumor antigen. Polyethylenimine was used as a synthetic carrier for vaccine delivery. It was shown that the conjugation of the developed vaccine with polyethylenimine increases the vaccine immunogenicity, which is manifested both in slowing the tumor progression and in activating the cellular immunity, including the cytotoxic T-cell response and the gamma-interferon production.

Keywords: DNA-vaccine, neuroblastoma, tyrosine hydroxylase, immunogenicity, polyethylenimine

For citation: Stegantseva M. V., Shinkevich V. A., Vashkevich K. P., Mikhaleuskaya T. M., Meleshko A. N. Polyethylenimine increases the immunogenicity of DNA-vaccine based on the tyrosine hydroxylase gene in the mouse model of neuroblastoma. *Vesti Natsyonal'nai akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 323–330 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-323-330>

Введение. Нейробластома (НБ) – наиболее часто встречаемая в детском возрасте солидная опухоль. Лечение НБ позволяет достичь ремиссии у ряда пациентов с I–III стадией, для лиц с IV стадией заболевания прогноз неблагоприятный [1].

Перспективным методом сопутствующей терапии онкологических заболеваний низкой и средней злокачественности, с высокой вероятностью длительной ремиссии и риском последующего рецидива является противоопухолевая ДНК-вакцинация, которая рассматривается в качестве дополнительного метода лечения, позволяющего снизить вероятность рецидива или образования метастазов [2].

Важным этапом при планировании вакцинации является выбор антигена, который и будет мишенью для иммунной системы. Для данного исследования была выбрана тирозингидроксилаза – фермент симпатической нервной системы, который превращает тирозин в диоксифенилаланин и регулирует скорость биосинтеза дофамина и норадреналина [3]. НБ происходит от симпатических нейроblastов, все случаи заболевания характеризуются высокой и стабильной экспрессией ТГ, независимо от стадии и N-Мус амплификации [4]. Продукция и метаболизм катехоламинов – установленный клинический маркер для диагностики и мониторинга пациентов с НБ [5]. Высокая экспрессия ТГ отсутствует во всех нормальных тканях и органах человека, кроме иммунопривилегированных органов (мозговое вещество надпочечников и центральная нервная система) [6]. Таким образом, ТГ оказывается подходящей мишенью для направленной иммунизации против НБ.

Известно, что введение низкоиммуногенного водного раствора плазмиды, кодирующей ген опухоль-ассоциированного антигена, может приводить к развитию иммунного ответа. Для увеличения иммуногенности ДНК-вакцин используют химические носители, способствующие стабилизации ДНК и увеличивающие эффективность трансфекции клеток. С этой целью применяют различные поликатиониды, сферообразующие полимеры, наночастицы [7]. Для доставки разработанной нами ДНК-вакцины использован линейный полиэтиленимин (ПЭИ) – катионный полимер с молекулярной массой 8 кДа.

Цель данного исследования – оценка иммуногенности ДНК-вакцины на основе гена тирозингидроксилазы на модели нейроblastомы у животных.

Материалы и методы исследования. *Дизайн и сборка ДНК-вакцины.* Ген ТГ мыши находится на 7-й хромосоме, включает 13 потенциальных экзонов. Согласно базе данных Ensembl, у мыши ген ТГ образует 6 транскриптов, из которых только 3 изоформы кодируют белки. Путем сравнительного анализа установлено, что для ТГ человека и мыши характерны высокая гомология белковой последовательности, а также ограниченное разнообразие белковых изоформ, из которых доминирует изоформа ТН-002, кодирующая полноразмерный транскрипт этого гена. Ее отличие от другой распространенной изоформы (ТН-001) является незначительным и заключается в отсутствии второго экзона.

Крайне важным фактором для иммуногенности вакцины является наличие в структуре антигена эпитопов для связывания с белками класса МНС-I. Для поиска эпитопов для белка ТГ мыши использовали онлайн-ресурс IEDB, а для поиска человеческого белка – онлайн-сервис NetCTL 1.2. Установлено, что количество потенциальных эпитопов ТГ с высокой аффинностью к белкам класса МНС-I мыши довольно велико, при этом обнаружены эпитопы, которые попадают в область максимально протяженной гомологии белков ТГ человека и мыши. Именно этот участок был выбран в качестве антигена и составил основу ДНК-конструкции (далее миниТГ).

В качестве исходного материала использованы надпочечники мыши линии BALB/c, полученные в стерильных условиях. Замороженные органы смешивали с 50 мкл RLT буфера (Qiagen, США) для предотвращения преждевременной деградации РНК в образце и растирали в ступке с жидким азотом до гомогенного состояния. К клеточной суспензии добавляли 1 мл TriReagent. РНК выделяли с помощью хлороформной преципитации. В синтез кДНК вносили 1 мкг РНК в конечном объеме 10 мкл. Реакционная смесь включала: 5×First Buffer (4 мкл), dNTP 2,5 мМ (1 мкл), Random Hexamer (1 мкл), RNase inhibitors (0,5 мкл), SuperScript III (1 мкл).

В качестве иммуностимулятора был выбран белок капсида вируса Х картофеля (PVXCP), который призван активировать врожденный иммунитет через паттерн-распознающие рецепторы и другие механизмы. Материалом для выделения вирусной РНК служили листья картофеля с характерными симптомами, вызываемыми этим вирусом. Собранные зараженные листья были перетерты в ступке с жидким азотом, 1 %-ным меркаптоэтанолом и смешаны с RLT буфером. Полученную кашицу с помощью шприца пропускали через бактериальный фильтр и использовали для очищения клеточного лизата.

Праймеры для амплификации подбирали с помощью программы Primer3Plus. Амплификацию проводили методом гнездовой ПЦР. ПЦР-реакция проводилась в объеме 25 мкл и включала 2,5 мкл 10×Buffer, 0,2 мкл 25 мМ dNTP, 1,5 мкл 25 мМ MgCl₂ (Promega Corporation, США), 0,15 мкл 5U PfxPol, по 5 мкл праймеров F/R 2,5 пмоль, 9,65 мкл H₂O.

Для рестрикции ПЦР-фрагментов, скрининга и проведения клонирования использовали рестриктазы BamHI, EcoRI, NotI, HindIII (Fast Digest, Thermo Scientific), в качестве векторов – плазмиды pTZ57R/T и pING. Трансформацию проводили кальций-холодовым методом. Выделение плазмидной ДНК осуществляли с помощью набора ChargeSwitch – Pro Plasmid mini kit (Invitrogen, США) в соответствии с инструкцией производителя. Реакцию секвенирования проводили в объеме 10 мкл, используя 1 мкл Big Dye terminator v3.1 Buffer, 1 мкл BigDye, 4 мкл PrimerF/R, 3 мкл H₂O, 1 мкл ДНК. Протокол реакции: при 96 °С – 1 мин; при 96 °С – 10 с, при 50 °С – 5 с, при 60 °С – 4 мин (25 циклов). По результатам клонирования получена генетическая конструкция, представленная на рис. 1.

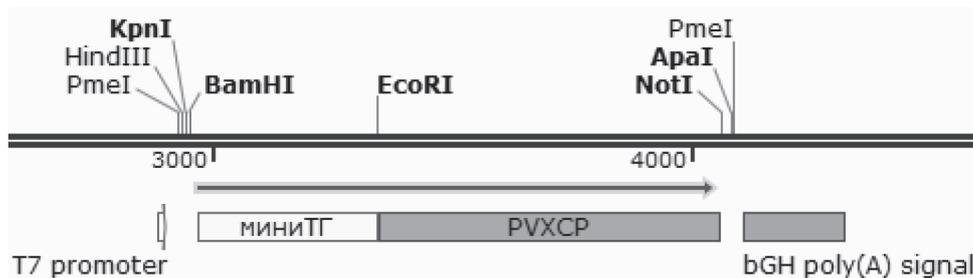


Рис. 1. Схема ДНК-вакцины на основе ТГ в векторе pING

Fig.1. Scheme of a DNA-vaccine based on the tyrosine hydroxylase in the vector pING

Клеточные линии, мыши. Для моделирования опухоли использовали клеточную линию мышинной нейробластомы NB41A3. Клетки культивировали в среде F10 с содержанием 10 % ЭТС, 1 % пенициллина/стрептомицина, 1 % L-глутамина. Данная линия не метастазирует, поэтому поиск удаленных метастазов не проводили. Объектом исследования являлись 53 мыши линии A/J – 16 самцов и 37 самок в возрасте 8–10 недель. Мышам ($n = 36$) прививали клетки NB41A3 в количестве 1 млн в объеме 100 мкл. На 5, 10 и 15-е сутки после прививки опухоли внутримышечно вводили ДНК-вакцину pING-миниТГ-PVXСР в водном растворе и в комплексе с линейным ПЭИ молекулярной массой 8 кДа в массовом соотношении 6:1 (соотношение N/P – 13.3) или пустой вектор pING (далее группа плацебо) в количестве 50 мкг в объеме 100 мкл. Для оценки безопасности вакцины группу здоровых мышей ($n = 8$) вакцинировали по указанной выше схеме с водным раствором плазмидной ДНК. Контрольная группа здоровых животных включала 9 мышей. Выведение животных из эксперимента осуществляли по показаниям, а при их отсутствии – по истечении 2-месячного периода мониторинга.

Цитотоксический тест. В стерильных условиях селезенку мышей изымали, гомогенизировали и пропускали через фильтр 40 мкм. Спленциты инкубировали в RPMI с содержанием 10 % ЭТС, 1 % пенициллина/стрептомицина, 1 % глутамина, 50 мкМ бета-меркаптоэтанола, 100 МЕ/мл ИЛ-2, при этом клетки-мишени NB41A3 облучали рентгеновскими лучами в течение 1–2 сут для рестимуляции. Соотношение эффекторы:мишени составляло 100:1, 30:1, 10:1. После рестимуляции к клеточной суспензии добавляли NB41A3, окрашенные красителем CFSE, и инкубировали 18 ч. Затем все клетки окрашивали витальным красителем пропидиум йодидом и инкубировали не более 5 мин. Анализ проводили в триплетах. Процент лизиса клеток-мишеней определяли методом проточной цитофлуориметрии на анализаторе FC500 (Becton Dickinson, США).

Иммуноферментный анализ. Кровь собирали на 30-е и 60-е сутки после иммунизации на момент эвтаназии. Сыворотку хранили при –80 °С. 96-луночный планшет (Grainer Bio-One, США) покрывали белком PVXСР в объеме 100 мкл и инкубировали в течение ночи. Планшет отмывали раствором PBS-0,05 % Tween. Сыворотку тестировали в разведениях 1:100 и 1:500. Антитела, связавшиеся с иммобилизованным антигеном, детектировали с помощью козьих антимышинных IgG антител, меченных пероксидазой. В качестве стоп-реагента использовали раствор тетрамилбензидина. Экспериментальные и контрольные образцы ставили в дублях.

ELISPOT. Интенсивность продукции мышинового гамма-интерферона (ИФН γ) определяли методом ELISPOT с помощью набора BD™ ELISPOT mouse IFN- γ ELISPOT Set (BD Biosciences, США). Анализ проводили в триплетах. В качестве положительного контроля использовали фитогемагглютинин (конечная концентрация 5 мкг/мл). Конечная концентрация антигена PVXCP составила 10 мкг/мл. Анализ проводили в триплете. Спленциты брали в количестве 300 тыс. на лунку. Результаты детектировали с помощью CTL ImmunoSpot® S5 UV Analyzer (C.T.L., США). Данные представлены в виде отношения количества пятен экспериментального образца к контролю.

Статистический анализ. Статистический анализ данных проводили на базе программы Statistica 7.0 и R Graphics Device 3 Active. Различия между группами оценивали по Манну–Уитни, а для определения динамики роста опухоли использовали критерий Тьюки с поправкой Хольма.

Результаты и их обсуждение. *Переносимость ДНК-вакцинации животными.* Проведена инъекция мышам плазмидной ДНК (50 мкг) в водном растворе и в комплексе с ПЭИ в соотношении 1:6. Объем инъекции составил 100 мкл. По результатам морфологического анализа гематомы, нарушения целостности мышечной ткани, а также воспалительной инфильтрации в месте инъекции не обнаружены. Поведенческих нарушений, местных и системных побочных эффектов, вызванных препаратом вакцины, не выявлено. При введении вакцины, конъюгированной с ПЭИ, наблюдалась незначительная нейтропения.

Динамика опухолевой прогрессии. Первую вакцинацию после прививки опухоли (0-е сутки) проводили на 5-е сутки независимо от наличия пальпируемого очага опухоли (рис. 2). Первые признаки роста опухоли с доступным для измерения первичным очагом появлялись на 13–17-е сутки.



Рис. 2. Схема вакцинации. ИО – иммунный ответ

Fig. 2. Vaccination schedule. ИО – immune response

На момент завершения эксперимента после инъекции опухолевых клеток в группе плацебо опухоль не прижилась у 1 (10 %) из 10 мышей; в группе, получавшей водный раствор вакцины, – у 5 (33,3 %) из 15; в группе, получавшей препарат, комплексированный с ПЭИ, – у 7 (63,6 %) из 11 мышей. Эти результаты указывают, что у ряда вакцинированных животных иммунный ответ вызвал отторжение опухолевых клеток до формирования опухолевого узла. После приживания опухоли развитие иммунного ответа подавляло рост опухоли, в результате чего скорость прогрессии последней у вакцинированных мышей была значительно меньше, чем в группе плацебо ($p < 0,05$) (рис. 3).

В группе мышей, получавших препарат вакцины с ПЭИ, наблюдалась самая низкая скорость прогрессии опухоли по сравнению с группой плацебо ($p = 0,0015$). Промежуточное положение занимала группа животных, получавших водный раствор вакцины. В связи с тем что неконъюгированная плаزمиды не защищена от внешних воздействий, большая ее часть разрушалась в межклеточном пространстве, так и не достигнув транскрипционного аппарата клетки. Тем не менее, скорость прогрессии опухоли у животных данной группы была достоверно ниже, чем в группе плацебо ($p = 0,03$).

Уровень анти-PVXCP антител. Во всех исследуемых группах титр анти-PVXCP антител был выше, чем в контрольной группе (медиана – 1), но различия не достоверны (рис. 4). Максимальный уровень антител зафиксирован у мышей после противоопухолевой вакцинации как в виде водного раствора (медиана – 1,53), так и в комплексе с ПЭИ (медиана – 1,47; $p > 0,05$). Титр антител в группе плацебо характеризовался достаточно широким диапазоном значений, при этом большинство из них находилось на уровне контроля (медиана – 0,7).

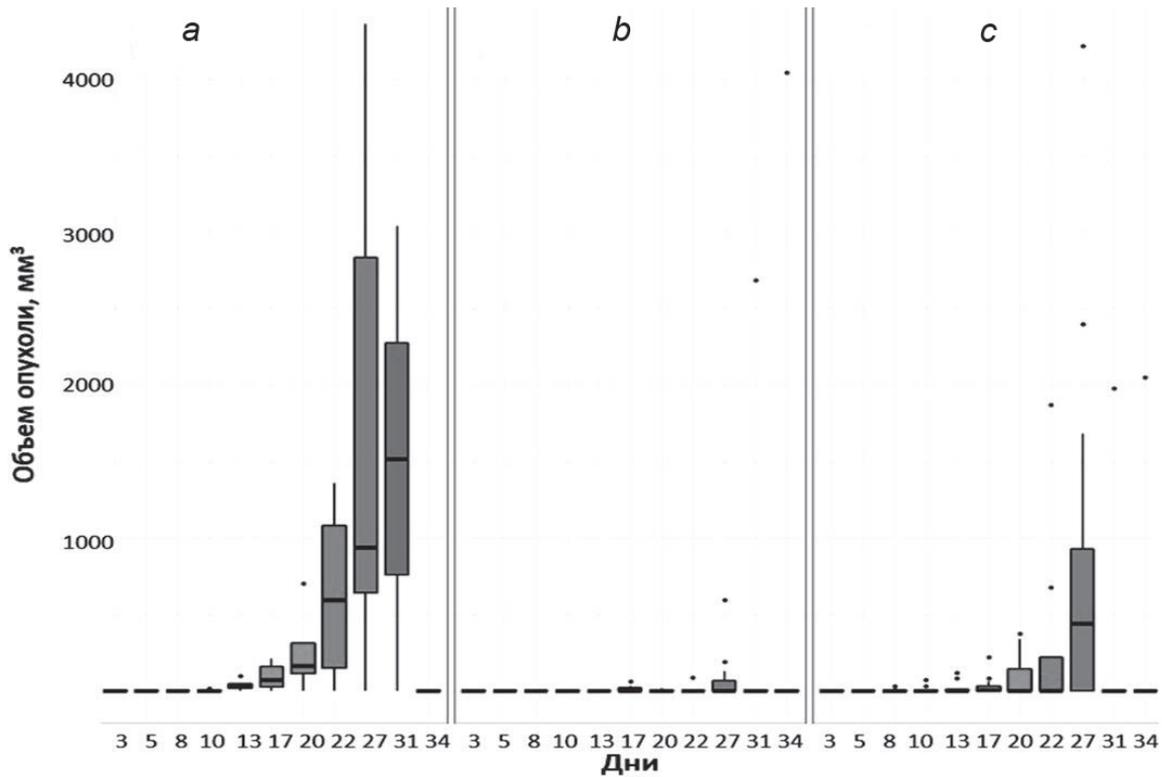


Рис. 3. Динамика роста опухоли в группах: *a* – плацебо, *b* – pING-миниТГ-PVXCP в комплексе с ПЭИ, *c* – водный раствор pING-миниТГ-PVXCP

Fig. 3. Dynamics of a tumor growth in groups: *a* – placebo, *b* – pING-miniTH-PVXCP conjugated with polyethylenimine, *c* – water solution of pING-miniTH-PVXCP

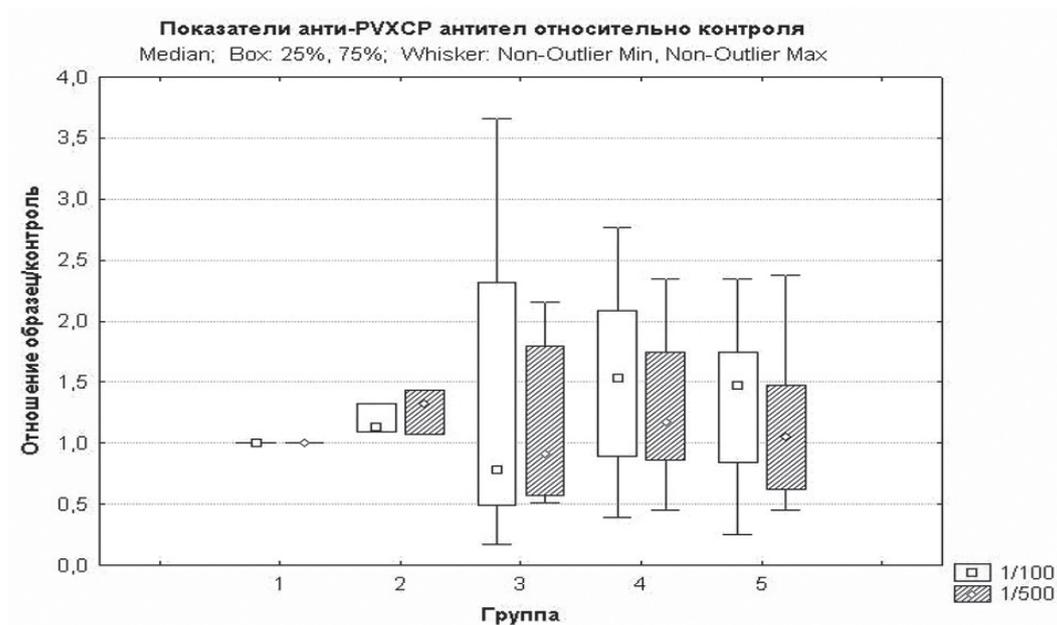


Рис. 4. Уровень анти-PVXCP антител в группах: 1 – здоровые мыши, 2 – здоровые вакцинированные мыши, 3 – плацебо (пустой вектор pING), 4 – pING-миниТГ-PVXCP водный раствор, 5 – pING-миниТГ-PVXCP + ПЭИ, * – $p < 0,01$

Fig. 4. Level of anti-PVXCP antibody in groups: 1 – healthy mice, 2 – healthy vaccinated mice, 3 – placebo (empty vector pING), 4 – water solution of pING-miniTH-PVXCP, 5 – pING-miniTH-PVXCP + polyethylenimine, * – $p < 0.01$

Иммунный ответ оценивали в промежутке от 30 до 60 сут после вакцинации животных. В связи с этим проведен сравнительный анализ титра антител у мышей, выведенных из эксперимента до 30-х суток включительно и ближе к 60-м суткам. По результатам сравнительного анализа титр антител ближе к 60-м суткам был выше, чем до 30-х суток (медиана – 1,67 против 1,31 для водного раствора вакцины и 1,45 против 1,05 для вакцины с ПЭИ, $p > 0,05$).

Цитотоксическая активность CD8⁺ Т-лимфоцитов. Специфическая цитотоксическая активность по отношению к клеткам-мишеням NB41A3 во всех исследуемых группах была выше, чем в контроле (рис. 5). В группе, которая получала водный раствор вакцины, процент лизиса незначительно выше, чем в группе плацебо (медиана составила 23,1 и 17,6 % соответственно, $p > 0,05$), что свидетельствует о низкой иммуногенности водного раствора.

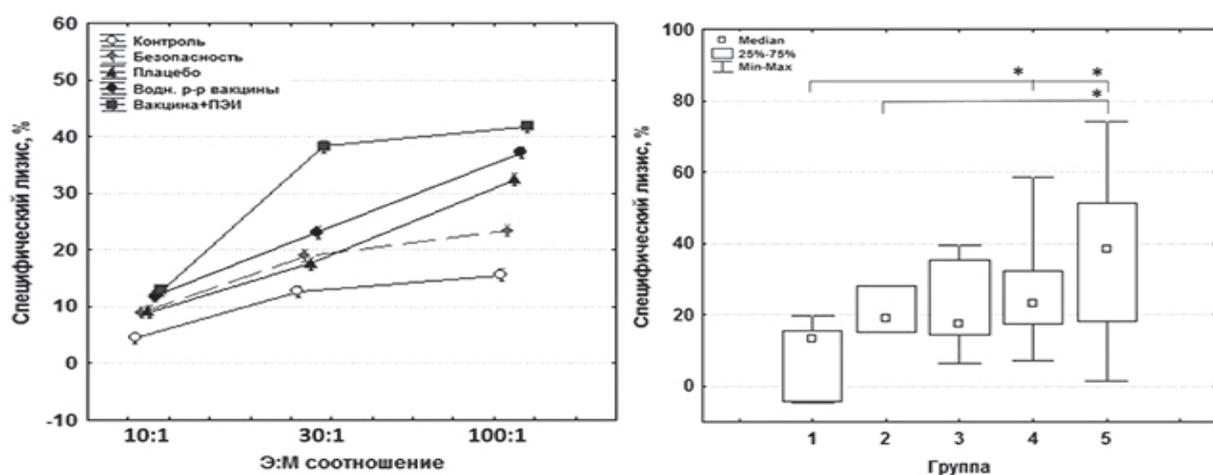


Рис. 5. Специфическая цитотоксическая активность спленоцитов: слева – динамика цитотоксической активности, справа – специфический лизис мишени при соотношении 30:1, Э:М – эффекторы:мишени, 1 – здоровые мыши, 2 – здоровые вакцинированные мыши, 3 – плацебо (пустой вектор pING), 4 – pING-миниТН-PVXCP водный раствор, 5 – pING-миниТН-PVXCP + ПЭИ, * – $p < 0,01$

Fig. 5. Specific cytotoxic activity of splenocytes: left side – dynamics of the cytotoxic activity, right side – specific lysis of target cells in the ratio of 30:1, E:T – effectors: targets, 1 – healthy mice, 2 – healthy vaccinated mice, 3 – placebo (empty vector pING), 4 – water solution of pING-miniTH-PVXCP, 5 – pING-miniTH-PVXCP + polyethylenimine, * – $p < 0.01$

Самая высокая активность CD8⁺ Т-лимфоцитов по отношению к NB41A3 зафиксирована в группе, получавшей препарат вакцины pING-миниТН-PVXCP в комплексе с ПЭИ (медиана – 38,3 % против 13,4 % у здоровых мышей, $p < 0,05$). ПЭИ способен предохранять плазмидную ДНК от разрушительного действия экзо- и эндонуклеаз, а также облегчает эндоцитоз конструкции через отрицательно заряженную липидную мембрану клетки.

Также следует отметить, что специфическая анти-NB41A3 активность спленоцитов в группе здоровых вакцинированных животных была выше, чем у здоровых мышей, почти в 2 раза (медиана составила 23,4 % против 13,4 %, $p > 0,05$). Таким образом, показано, что ДНК-вакцинация индуцирует развитие клеточного иммунитета.

Продукция гамма-интерферона Т-лимфоцитами. Методом ELISPOT оценивали совокупную продукцию ИФН γ CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитами. Самая высокая активность в отношении продукции ИФН γ наблюдалась в группе мышей, вакцинированных плазмидой в комплексе с ПЭИ (медиана в 3 раза выше, чем в группе плацебо, $p = 0,12$) (рис. 6). Во всех остальных группах полученные показатели были сопоставимы и/или достоверно не отличались друг от друга. Примечательно, что ДНК-вакцинация в отсутствие опухолевых клеток не вызывала индукции интерферона.

Таким образом, возможность индукции эффективного иммунного ответа с помощью ДНК-вакцины против нейробластомы выражается в достоверном замедлении роста опухоли и измеряемом уровне иммунного ответа.

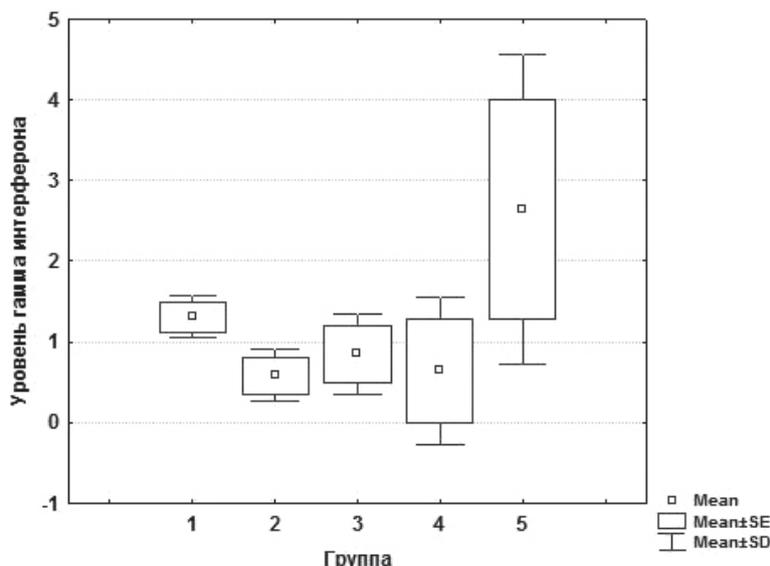


Рис. 6. Продукция гамма-интерферона Т-лимфоцитами в группах: 1 – здоровые мыши, 2 – здоровые вакцинированные мыши, 3 – плацебо, 4 – pING-миниТН-PVXCP водный раствор, 5 – pING-миниТН-PVXCP + ПЭИ

Fig. 6. Gamma-interferon production by T-lymphocytes in groups: 1 – healthy mice, 2 – healthy vaccinated mice, 3 – placebo (empty vector pING), 4 – water solution of pING-miniTH-PVXCP, 5 – pING-miniTH-PVXCP + polyethylenimine, * – $p < 0.01$

Выводы

1. Конъюгирование ДНК с синтетическим носителем ПЭИ значительно усиливает противоопухолевый иммунный ответ у мышей с привитой опухолью.

2. Иммунный ответ у мышей на конъюгат ДНК-вакцины с ПЭИ характеризуется слабой индукцией антителообразования и относительно высокой индукцией цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов, а также CD4+ Т-хэлперов первого типа и CD8+ Т-лимфоцитов, продуцирующих гамма-интерферон.

3. Более выраженный Т-клеточный иммунный ответ у мышей с привитой опухолью на конъюгат вакцины указывает на наличие бустерного эффекта вакцинации на иммунную систему мышей в отношении опухоль-ассоциированных антигенов.

Показанная нами принципиальная возможность терапевтической иммунизации против нейробластомы с ДНК-вакциной требует дальнейших доклинических экспериментальных исследований, направленных на усиление терапевтического эффекта, в том числе за счет использования разных антигенов и совершенствования способов доставки ДНК-вакцины.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

- Cheung, N.-K. V. Neuroblastoma: developmental biology, cancer genomics and immunotherapy / N.-K. Cheung, M. A. Dyer // Nature Rev. Cancer. – 2013. – Vol. 13, N 6. – P. 397–411. <https://doi.org/10.1038/nrc3526>
- Progress on new vaccine strategies for the immunotherapy and prevention of cancer / J. A. Berzofsky [et al.] // J. of Clinical Investigation. – 2004. – Vol. 113, N 11. – P. 1515–1525. <https://doi.org/10.1172/JCI200421926>
- Тирозингидроксилаза мозга и ее регуляция глюкокортикоидами / Е. В. Сухарева [др.] // Вавилов. журн. генетики и селекции. – 2016. – Т. 20, № 2. – С. 212–219.
- Neuroblastoma initially presenting as a primary bone tumor: diagnostic value of molecular assays for tyrosine hydroxylase / M. J. Robles-Frías [et al.] // Med. Pediatr. Oncol. – 2003. – Vol. 40, N 3. – P. 167–170. <https://doi.org/10.1002/mpo.10119>
- A rationally designed tyrosine hydroxylase DNA vaccine induces specific antineuroblastoma immunity / N. Huebener [et al.] // Mol. Cancer Ther. – 2008. – Vol. 7, N 7. – P. 2241–2251. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-08-0109>
- Tissue expression of TH [Electronic resource]. – Mode of access : <http://www.proteinatlas.org/ENSG00000180176-TH/tissue>. – Date of access : 15.08.2017.
- Synthetic vehicles for DNA vaccination / J. H. van den Berg [et al.] // J. Drug Target. – 2010. – Vol. 18, N 1. – P. 1–14. <https://doi.org/10.3109/10611860903278023>

References

1. Cheung N.-K. V., Dyaer M. A. Neuroblastoma: developmental biology, cancer genomics and immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 2013, vol. 13, no. 6, pp. 397–411. <https://doi.org/10.1038/nrc3526>
2. Berzofsky J. A., Tereba M., Oh S., Belyakov I. M., Ahlers J. D., Janik J. E., Morris J. C. Progress on new vaccine strategies for the immunotherapy and prevention of cancer. *Journal of Clinical Investigations*, 2004, vol. 113, no. 11, pp. 1515–1525. <https://doi.org/10.1172/JCI200421926>
3. Sukhareva E. V., Kalinina T. S., Bulygina V. V., Dygalo N. N. Tyrosine hydroxylase of the brain and its regulation by glucocorticoids. *Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii = Vavilov Journal of genetics and breeding*, 2016, vol. 20, no. 2, pp. 212–219 (in Russian).
4. Robles-Frías M., Segura D. I., Márquez C., Quiroga E., Álvarez A. M., Sáez C. Neuroblastoma initially presenting as a primary bone tumor: diagnostic value of molecular assays for tyrosine hydroxylase. *Medical and Pediatric Oncology*, 2003, vol. 40, no. 3, pp. 167–170. <https://doi.org/10.1002/mpo.10119>
5. Huebener N., Fest S., Strandsby A., Michalsky E., Preissner R., Zeng Y., Gaedicke G., Lode H. N. A rationally designed tyrosine hydroxylase DNA vaccine induces specific antineuroblastoma immunity. *Molecular Cancer Therapy*, 2008, vol. 7, no. 7, pp. 2241–2251. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-08-0109>
6. *Tissue expression of TH*. Available at: <http://www.proteinatlas.org/ENSG00000180176-TH/tissue> (accessed 15.08.2017).
7. Van den Berg J. H., Nuijten B., Schumacher T. N., Haanen J. B. A. G., Storm G., Beijnen J. H., Hennink W. E. Synthetic vehicles for DNA vaccination. *Journal of Drug Targeting*, 2010, vol. 18, no. 1, pp. 1–14. <https://doi.org/10.3109/10611860903278023>

Информация об авторах

Стёганцева Мария Владимировна – магистр биол. наук, науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: stegantsevam@gmail.com

Шинкевич Вероника Александровна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: veroni.shinkevich@gmail.com

Вашкевич Екатерина Петровна – ст. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: katsiaryna.vashkevich@gmail.com

Михалевская Таисия Михайловна – патоморфолог. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: aisiat@tut.by

Мелешко Александр Николаевич – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: meleshko@tut.by

Information about the authors

Maria V. Stegantseva – Master of Biological Sciences, Researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., v. Borovliany, 223053, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: stegantsevam@gmail.com

Veronika A. Shinkevich – Junior researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., v. Borovliany, 223053, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: veroni.shinkevich@gmail.com

Katsiaryna P. Vashkevich – Senior researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., v. Borovliany, 223053, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: katsiaryna.vashkevich@gmail.com

Taisiya M. Mikhaleuskaya – Pathomorphologist. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., v. Borovliany, 223053, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: aisiat@tut.by

Alexander N. Meleshko – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., v. Borovliany, 223053, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: meleshko@tut.by

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 612.884:615.038
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-331-338>

Поступила в редакцию 27.12.2017
Received 27.12.2017

А. Ю. Молчанова¹, И. П. Жаворонок¹, Е. И. Пехтерева¹, О. А. Антипова¹,
Т. Б. Мелик-Касумов¹, Т. О. Павлють¹, А. И. Василькевич², М. А. Кисель²

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

АНТИНОЦИЦЕПТИВНЫЙ ЭФФЕКТ СИСТЕМНОГО ВВЕДЕНИЯ ПАЛЬМИТОИЛЭТАНОЛАМИДА, СТЕАРОИЛЭТАНОЛАМИДА И ДИКЛОФЕНАКА НАТРИЯ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ НЕЙРОГЕННЫМ БОЛЕВЫМ СИНДРОМОМ

Аннотация. Изучен антиноцицептивный эффект пальмитоилэтаноламида (ПЭА), стеароилэтаноламида (СЭА) и диклофенака натрия при экспериментальной периферической нейропатии у крыс. Внутривнутришнее введение крысам ПЭА за 1 ч до стимуляции на 7-е и 14-е сутки существенно ослабляло вызванную свободным хроническим лигированием седалищного нерва механическую гипералгезию, повышая порог ноцицептивной реакции (ПНР) на 23,1 и 31,8 % соответственно. СЭА в аналогичных условиях повышал ПНР на 27,9 и 30,3 %, тогда как диклофенак – на 29,0 и 26,2 %. Получены новые данные о том, что системное действие СЭА приводит к ослаблению болевого синдрома. Антиноцицептивные эффекты указанных дериватов жирных кислот при моделировании нейрогенного болевого синдрома сравнимы с таковыми диклофенака натрия. Представляется целесообразным рассматривать ПЭА и СЭА в качестве основы для препаратов, добавление которых к схемам лечения нейропатической боли позволит повысить его эффективность.

Ключевые слова: этаноламиды, нейропатия, порог ноцицептивной реакции, механическая гипералгезия

Для цитирования: Антиноцицептивный эффект системного введения пальмитоилэтаноламида, стеароилэтаноламида и диклофенака натрия у крыс с экспериментальным нейрогенным болевым синдромом / А. Ю. Молчанова [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 331–338. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-331-338>

A. Iu. Molchanova¹, I. P. Zhavoronok¹, E. I. Pekhtereva¹, O. A. Antipova¹, T. B. Melik-Kasumov¹,
T. O. Pavlyut¹, A. I. Vasil'kevich², M. A. Kisel²

¹Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

ANTINOCYCEPTIVE EFFECT OF A SYSTEMIC ADMINISTRATION OF PALMITOYLETHANOLAMIDE, STEAROYLETHANOLAMIDE AND DYCLOFENAC IN RATS WITH EXPERIMENTAL NEUROGENIC PAIN SYNDROME

Abstract. The antinociceptive effect of palmitoylethanolamide (PEA), stearyl- ethanolamide (SEA) and sodium diclofenac in experimental peripheral neuropathy in rats was studied. Intraperitoneal administration of PEA one hour prior to stimulation on the 7th and 14th day significantly weakened CCI-induced mechanical hyperalgesia by increasing PNR by 23.1 and 31.8 %, respectively. SEA under similar conditions increased PNR by 27.9 and 30.3 %, while diclofenac – by 29.0 and 26.2 %. New data were obtained and pointed that stearyl ethanolamide effectively weakens mechanical hyperalgesia caused by neuropathy. The antinociceptive effects of these fatty acid derivatives in the modeling of neurogenic pain syndrome are comparable to those of sodium diclofenac. It seems advisable to consider PEA and SEA as a basis for drugs, whose addition to treatment regimens of neuropathic pain will increase its effectiveness.

Keywords: ethanolamides, neuropathy, threshold of nociceptive reaction, mechanical hyperalgesia

For citation: Molchanova A. Iu., Zhavoronok I. P., Pekhtereva E. I., Antipova O. A., Melik-Kasumov T. B., Pavlyut' T. O., Vasil'kevich A. I., Kisel' M. A. Antinociceptive effect of a systemic administration of palmitoylethanolamide, stearyl ethanolamide and dyclofenac in rats with experimental neurogenic pain syndrome. *Vesti Natsyyanal' nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 331–338 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-331-338>

Введение. Нейропатическая боль является изнурительной формой хронической боли, плохо поддающейся лечению. Периферическая нейропатия зачастую развивается на фоне онкологических заболеваний и химиотерапии, иммунодефицитных состояний, герпетической инфекции,

сахарного диабета, рассеянного склероза и травм спинного мозга [1, 2]. Ключевыми механизмами нейропатической боли являются эктопическая активность афферентных волокон, ослабление тормозного контроля, периферическая и/или центральная сенситизация, патологическая активация микроглии и тучных клеток [3]. На сегодняшний день насущной проблемой является поиск эффективных средств купирования нейропатической боли, не оказывающих при этом побочных эффектов на организм. К таким препаратам можно отнести эндогенные этаноламиды жирных кислот, в основном образующихся в результате синтеза из свободной жирной кислоты и этаноламина или энзиматического расщепления N-ацилированного фосфатидилэтаноламина фосфолипазой D [4]. На протяжении последних двух десятилетий получены убедительные экспериментальные свидетельства того, что N-ацилэтаноламины (АЭА) являются отдельным классом эндогенных сигнальных молекул [5–7]. АЭА присутствуют почти во всех тканях и органах, включая центральную нервную систему (ЦНС). Однако, в отличие от классических трансммиттеров (моноаминов или пептидов), АЭА не хранятся в везикулах (что обусловлено ферментативным путем их образования и гидрофобностью). При действии специфических стимулов (повышение концентрации внутриклеточного кальция, деполяризация клетки) АЭА образуются и высвобождаются «по требованию», служа, в свою очередь, плейотропными сигналами, регулирующими множество процессов в клетке [5]. Они участвуют в модуляции высвобождения нейротрансмиттеров, в функционировании клеточных энергетических систем и вовлечены в регуляцию различных процессов, включая боль и воспаление [5, 6]. Особый интерес в этой связи представляют структурные аналоги эндоканнабиноида анандамида – пальмитоилэтаноламид (ПЭА) и стеароилэтаноламид (СЭА). В отличие от своего конгенера анандамида они не взаимодействуют со специфическими каннабиноидными рецепторами и не вызывают психотропного действия. Имеются экспериментальные свидетельства антиноцицептивного, нейропротекторного и противовоспалительного эффектов ПЭА, тогда как эффекты СЭА изучены недостаточно.

Цель настоящей работы – сравнительная оценка антиноцицептивного действия пальмитоилэтаноламида и стеароилэтаноламида, а также диклофенака натрия в качестве препарата, применяемого в клинических схемах купирования хронических болевых синдромов.

Материалы и методы исследования. *Экспериментальная химическая часть.* Спектры протонно-магнитного резонанса (ПМР) регистрировали на приборе Bruker-Biospin AVANCE-500 в дейтеропиридине (D_5Pu) с тетраметилсиланом в качестве внутреннего стандарта. Масс-спектры регистрировали на хромато-масс-спектрометре в составе высокоэффективного жидкостного хроматографа ACCELA и масс-детектора LCQ Fleet с трехмерной квадрупольной ловушкой Thermo Electron. Этаноламиды жирных кислот ПЭА и СЭА синтезировали путем ацилирования этаноламина смешанными ангидридами жирных кислот и этилугольной кислоты. К 0,02 моль жирной кислоты (5,12 г пальмитиновой или 5,68 г стеариновой), растворенной в 100 мл тетрагидрофуране, добавляли 0,025 моль (3,48 мл) триэтиламина и охлаждали до $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Затем добавляли 0,025 моль (2,38 мл) этилхлорформиата и выдерживали при $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин. Осадок триэтиламина гидрохлорида отделяли путем фильтрования, холодный раствор смешанного ангидрида добавляли к раствору 2,4 мл этаноламина в 10 мл метанола. Перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Выпавший в осадок продукт отделяли с помощью фильтрования, перекристаллизовывали из смеси гексан-этилацетата или хлороформ-метанола.

Экспериментальная биологическая часть. Исследования выполнены на рандомбредных белых крысах-самцах ($n = 83$) с массой тела 220–250 г. Все животные находились в контролируемых условиях окружающей среды на одинаковом (стандартном) рационе, имели свободный доступ к воде и пище [8]. Световой режим в условиях вивария обеспечивался автоматической смесью освещения «день/ночь» каждые 12 ч. Эксперименты проводили с соблюдением правовых и этических норм обращения с животными в соответствии с национальными и международными стандартами качества планирования и проведения исследований на животных [9, 10]. Все эксперименты начинали в 9.00 утра.

Моделирование периферической нейропатии проводили под общим наркозом (тиопентал натрия («Киевмедпрепараты», Украина, 20 мг/кг, внутривенно) по методике G. I. Bennett (1988) [11] посредством свободного хронического лигирования седалищного нерва. На слизистую глаз на-

носили «Офтагель» («Сантэн», Финляндия) для предотвращения пересыхания глазного яблока. Выстригали шерсть в области бедра и голени крысы и обрабатывали подготовленное поле 5 %-ным спиртовым раствором йода. Для инфильтрационной анестезии использовали лидокаина гидрохлорид (1 %-ный раствор, 30–40 мкл на крысу). Разрез кожи и нижележащих тканей проводили брюшистым скальпелем (длина разреза составляла 0,8–1,0 см); мышечный слой раздвигали пинцетом, минимально травмируя мышечные волокна, находили седалищный нерв и накладывали на него лигатуры в трех местах (в качестве лигатуры использовали рассасывающийся полидиоксаноновый полимер, нить «Сургикрил», USP 3/0, «Футберг», Беларусь) на расстоянии 1 мм друг от друга. Мышечные волокна заклеивали медицинским клеем БФ-6. Кожу сшивали простой режущей иглой с рассасывающейся нитью непрерывным матрацным швом. Готовый шов обрабатывали 1 %-ным раствором бриллиантовой зелени. Ложнооперированным животным производили только разрез кожи и раздвигали мышцы без лигирования нервного ствола с последующим ушиванием краев раны. Для предупреждения развития инфекции животным подкожно инъецировали растворенный в воде для инъекций антибиотик цефтриаксон (Борисовский завод медицинских препаратов, Беларусь) в дозе 200 мг/кг однократно непосредственно после оперативного вмешательства. После операции крыс помещали в индивидуальные боксы, которые располагали в теплом месте. До выхода из наркоза животные находились под визуальным наблюдением. Животных, у которых в течение послеоперационного периода наблюдения проявлялись признаки аутономии задней конечности или развивалась трофическая язва, выводили из эксперимента досрочно и их данные не учитывали при анализе результатов.

Изменение порога ноцицептивной реакции (ПНР) крыс оценивали в тесте Рандалла–Селитто («давление на лапу») путем измерения давления (в граммах) пластикового конуса на стопу крысы, в результате чего отмечается специфическая болевая реакция (отдергивание лапы либо вокализация) [12]. Тест проводили поочередно на обеих задних конечностях каждого животного с использованием анальгезиметра (Paw pressure meter LE7306, Panlab, Испания). Измерение для каждой задней конечности проводили трехкратно с интервалом 5–7 мин. У животных группы позитивного контроля (свободное хроническое лигирование седалищного нерва (СХЛСН)) измерение ПНР проводили ежедневно. На основании полученных данных в дальнейшем регистрацию ПНР проводили до и на 1, 4, 7, 14 и 21-е сутки после лигирования седалищного нерва. При этом на 7-е и 14-е сутки (временные точки, когда изменения ПНР были максимально выражены) крысам внутрибрюшинно вводили этаноламида жирных кислот ПЭА и СЭА в дозах 0,75 и 0,82 мг/кг соответственно, затем через 1 ч после инъекции повторно измеряли ПНР. Для сравнения (в качестве лекарственного средства с доказанной эффективностью) в отдельной серии экспериментов животным по аналогичной схеме вводили диклофенак натрия («Белмедпрепараты», Беларусь) в дозе 50 мг/кг.

Амиды жирных кислот являются гидрофобными и сложнорастворимыми препаратами. Поэтому для их введения использовали комплексный растворитель, состоящий из Tween 80 (Sigma, США), этанола и апириногенного физиологического раствора в соотношении 1:1:8.

Животные были разделены на следующие группы: интактные ($n = 10$), СХЛСН ($n = 10$); ложнооперированные ($n = 10$), введение смеси растворителей на фоне СХЛСН ($n = 8$); животные опытных групп – введение ПЭА ($n = 15$ для ПЭА, синтезированного нами, $n = 10$ для ПЭА производства Sigma, США), СЭА ($n = 12$) или диклофенака натрия ($n = 8$) на фоне СХЛСН.

Анализ данных выполняли с использованием программы Microsoft Excel с определением среднего арифметического значения и его стандартной ошибки ($M \pm m$). Проверку на нормальность распределения количественных показателей осуществляли с помощью программы Origin 7.0 по критерию Шапиро–Уилка. Результаты теста свидетельствовали о нормальном распределении данных для всех исследуемых параметров ($p > 0,05$). Значимость наблюдаемых отличий в группах оценивали с помощью двухвыборочного теста Стьюдента: вывод о статистической значимости (достоверности) отличий делали при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. СХЛСН, сопровождающееся ухудшением его трофики, приводило к развитию у экспериментальных животных механической гипералгезии уже с первых суток после операции (рис. 1). Наиболее выраженные и достоверные ($p < 0,05$) изменения (мини-

мальные значения ПНР) были зарегистрированы с 7-х (уменьшение на 26,9 % – с $67,5 \pm 3,6$ до $49,3 \pm 3,0$ г; $p = 0,000002$) по 14-е (снижение на 20,3 % – до $53,8 \pm 2,9$ г; $p = 0,003$) сутки после операции. Визуально в эти сроки наблюдали следующие симптомы: чрезмерное облизывание ипсилатеральной задней лапы, прихрамывание и поструральную асимметрию. Дальнейший мониторинг (с 15-х по 21-е сутки после СХЛСН) показал постепенное увеличение значений ПНР и уменьшение выраженности клинической картины (рис. 1).

Данные регистрации ПНР неоперированной (контрлатеральной) задней конечности (рис. 2), как и обеих конечностей ложнооперированных животных свидетельствовали об отсутствии достоверных ($p = 0,31$ на 7-е сутки, $p = 0,107$ на 14-е сутки) изменений исследуемого показателя.

Однократное болюсное внутрибрюшинное введение ПЭА крысам с СХЛСН в дозе 0,75 мг/кг предварительно (за 1 ч) до стимуляции на 7-е и 14-е сутки существенно ослабляло вызванную СХЛСН механическую гипералгезию. После инъекции ПЭА на 7-е сутки у животных значение ПНР в тесте Рандалла–Селитто выросло на 23,1 % (до $65,2 \pm 2,3$ г, $p = 0,0003$) по сравнению с таковым до введения ПЭА ($52,9 \pm 2,4$ г). Инъекция ПЭА на 14-е сутки привела к увеличению ПНР

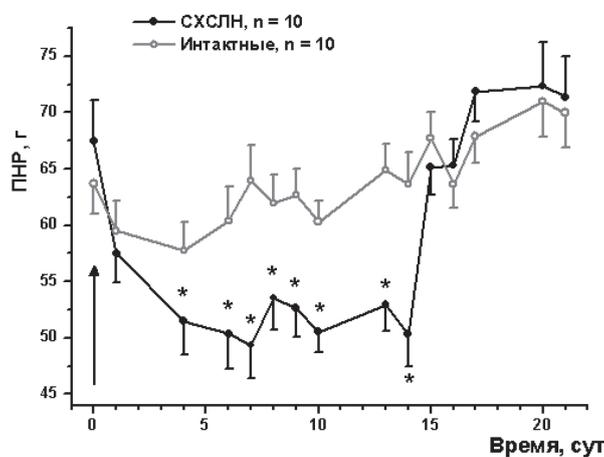


Рис. 1. Изменение порога ноцицептивной реакции крыс в тесте Рандалла–Селитто после свободного хронического лигирования седалищного нерва (СХЛСН). Стрелкой указано время СХЛСН. * – $p < 0,05$ по сравнению интактными животными

Fig. 1. Change in the threshold of the nociceptive reaction of rats in the Randall–Selitto test after free chronic sciatic nerve ligation (FCSNL). The arrow indicates the FCSNL time. * – $p < 0.05$ compared to intact animals

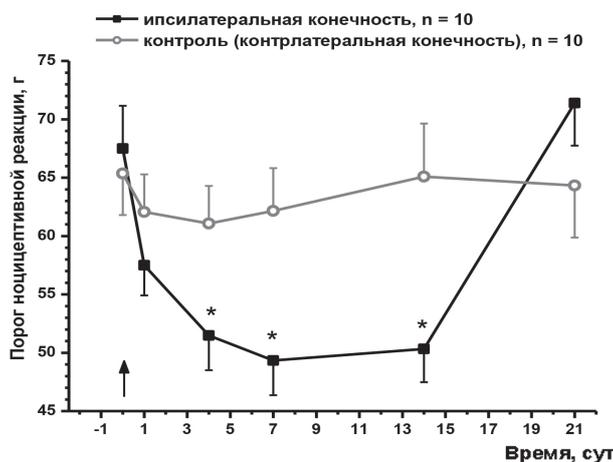


Рис. 2. Изменение порога ноцицептивной реакции крыс в тесте Рандалла–Селитто после свободного хронического лигирования седалищного нерва (СХЛСН). Стрелкой указано время СХЛСН. * – $p < 0,05$ по сравнению с контрлатеральной конечностью

Fig. 2. Change in the threshold of the nociceptive reaction of rats in the Randall–Selitto test after free chronic sciatic nerve ligation (FCSNL). The arrow indicates the FCSNL time. * – $p < 0.05$ in comparison with the contralateral limb

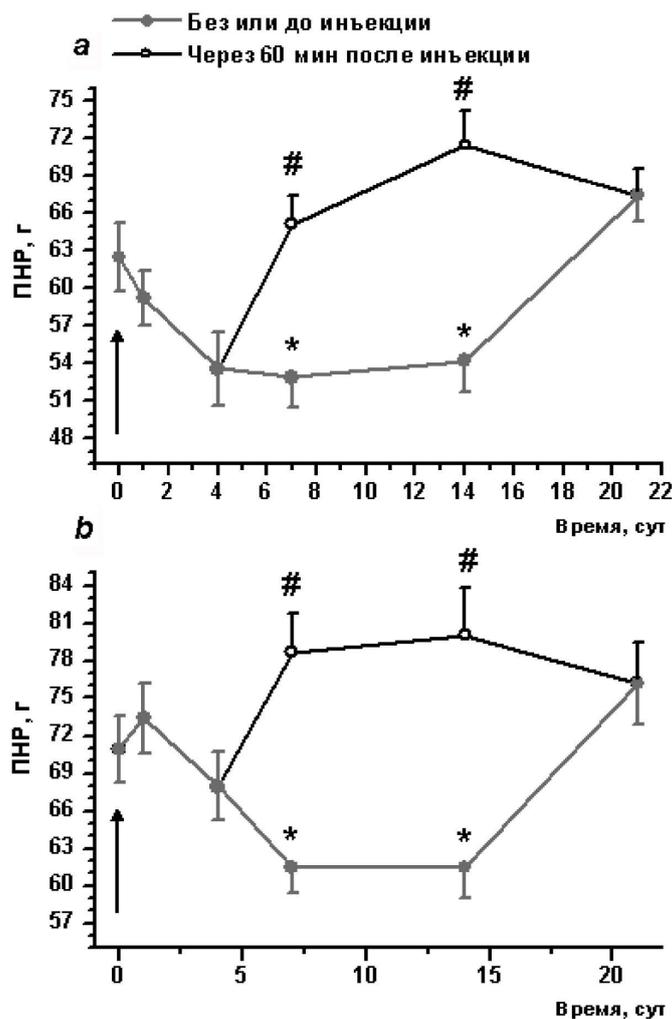


Рис. 3. Изменение порога ноцицептивной реакции (ПНР) крыс в тесте Рандалла–Селитто после свободного хронического лигирования седалищного нерва (СХСЛН), предварительно получивших ПЭА (а, $n = 15$) или СЭА (б, $n = 12$) на 7-е и 14-е сутки. Стрелкой указано время СХСЛН. Достоверность различий ($p < 0,05$): * – по сравнению с ПНР до СХСЛН; # – по сравнению с ПНР до инъекции ПЭА или СЭА

Fig. 3. Change in the threshold of the nociceptive reaction (NRT) of rats in the Randall-Celitto test after free chronic sciatic nerve ligation (FCSNL), previously obtained palmitoylethanolamide (PEA) (a, $n = 15$) or stearyl ethanolamide (SEA) (b, $n = 12$) on the 7th and 14th day. The arrow indicates the FCSNL time. Reliability of differences ($p < 0.05$): * – in comparison with NDP to FCSNL; # – in comparison with NRT prior to PEA or SEA injection

на 31,8 % (от $54,3 \pm 2,6$ до $71,5 \pm 2,7$ г, $p = 0,0002$) (рис. 3, а). Следует отметить, что значения ПНР, зарегистрированные через 1 ч после введения ПЭА, были выше таковых до лигирования. Внутривентрикулярное введение крысам смеси растворителей на фоне СХСЛН (по аналогичной схеме), в отличие от ПЭА, не влияло на величину порога ноцицептивной реакции.

Для сравнения были проведены подобные эксперименты с применением ПЭА производства Sigma (США). Внутривентрикулярная инъекция указанного ацилэтананоламида в дозе 0,75 мг/кг на 7-е и 14-е сутки приводила к увеличению ПНР на 23,3 % (от $55,7 \pm 1,7$ до $68,7 \pm 1,9$ г, $p = 0,003$) и на 28,9 % (от $50,1 \pm 1,8$ до $64,6 \pm 1,6$ г, $p = 0,002$) соответственно. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при экспериментальной нейропатии синтезированный нами ПЭА совпадает по эффективности антиноцицептивного действия с ПЭА, произведенным в Sigma.

Применение в аналогичных условиях эксперимента СЭА ($n = 12$) также вызывало повышение ПНР в тесте Рандалла–Селитто. Болюсная инъекция 0,82 мг/кг СЭА на 7-е сутки после процедуры лигирования увеличивала ПНР на 27,9 % (от $61,5 \pm 2,1$ до $78,6 \pm 3,1$ г, $p = 0,00004$), а на 14-е сутки – на 30,3 % (от $61,5 \pm 2,5$ до $80,0 \pm 3,7$ г, $p = 0,000000001$) (рис. 3, б).

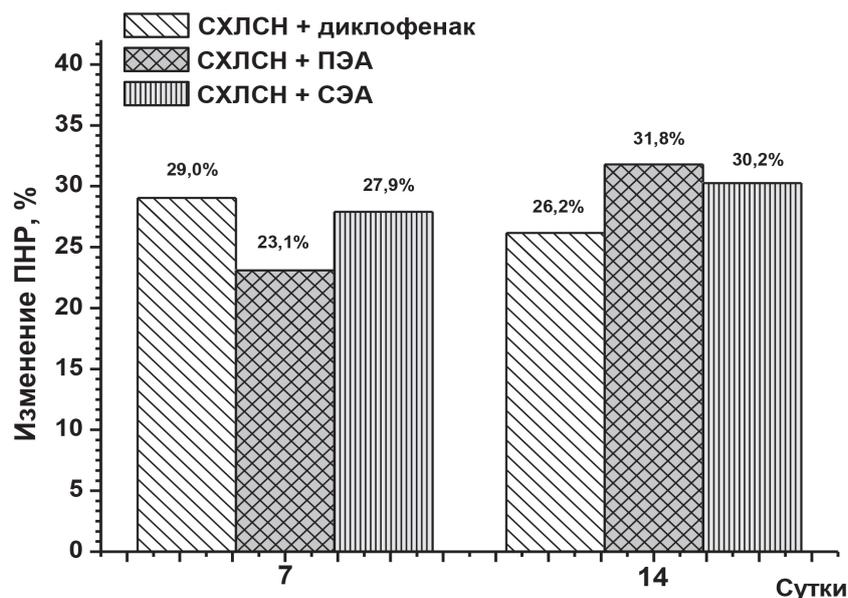


Рис. 4. Изменение порога ноцицептивной реакции (ПНР) крыс в тесте Рандалла–Селитто через 1 ч после внутривентриальной инъекции ПЭА ($n = 15$), СЭА ($n = 12$) или диклофенака натрия ($n = 8$) на 7-е и 14-е сутки после свободного хронического лигирования седалищного нерва. За 100 % принято соответствующее значение ПНР до инъекции

Fig. 4. Change in the threshold of the nociceptive reaction (NRT) of rats in the Randall-Selitto test one hour after intraperitoneal injection of palmitoylethanolamide ($n = 15$), stearoylethanolamide ($n = 12$) or diclofenac sodium ($n = 8$) by the 7th and 14th day after free chronic ligation of the sciatic nerve. The corresponding value of NRT prior to injection is taken as 100 %

Нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (НПВС) применяются на начальной ступени лечения болевых синдромов при нейропатии. В этой связи в качестве препарата сравнения в наших исследованиях был выбран диклофенак натрия. Указанное лекарственное средство, введенное внутривентриально в дозе 50 мг/кг, достоверно увеличивало ПНР у крыс как на 7-е (на 29,0 % – от $47,1 \pm 1,8$ до $60,7 \pm 2,9$ г, $p = 0,02$), так и на 14-е (на 26,2 % – от $50,3 \pm 2,4$ до $63,5 \pm 2,4$ г, $p = 0,02$) сутки после СХЛСН (рис. 4).

Однако изменения ПНР в этой группе животных не отличались статистически значимо от таковых при действии ПЭА или СЭА. То есть по эффективности антиноцицептивного действия при периферической нейропатии как ПЭА, так и СЭА не уступали диклофенаку. Полученные нами данные согласуются с опубликованными результатами клинического исследования об ослаблении боли и улучшении функции миелинизированных А α , А β , и А δ -нервных волокон у принимавших ПЭА пациентов с нейропатией, вызванной химиопрепаратами [13]. В то же время физиологические эффекты СЭА изучены недостаточно. В рамках настоящего исследования данные о его влиянии на болевую чувствительность получены впервые. НПВС (как и антиконвульсанты и антидепрессанты, применяемые при нейропатии) обладают рядом негативных побочных эффектов на организм, не свойственных изучаемым нами ацилэтаноламидам. Предполагается также, что производные жирных кислот способны оказывать прямое стабилизирующее воздействие на мембрану клеток, делая ее, с одной стороны, более устойчивой к повреждающим воздействиям, а с другой – улучшая проведение нервного импульса по ней [7].

Заключение. Учитывая изложенное выше, а также результаты наших экспериментов, представляется целесообразным рассматривать ПЭА и СЭА в качестве основы для препаратов, добавление которых к схемам лечения нейропатической боли позволит уменьшить дозы традиционных лекарственных средств, а значит, и снизить их токсичность.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

- Schmader, K. E. Epidemiology and impact on quality of life of postherpetic neuralgia and painful diabetic neuropathy / K. E. Schmader // Clin. J. Pain. – 2002. – Vol. 18, N 6. – P. 350–354. <https://doi.org/10.1097/00002508-200211000-00002>

2. Neuropathic pain after traumatic spinal cord injury: relations to gender, spinal level, completeness, and age at the time of injury / L. Werhagen [et al.] // *Spinal Cord*. – 2004. – Vol. 42, N 12. – P. 665–673. <https://doi.org/10.1038/sj.sc.3101641>
3. Epigenetic mechanisms of chronic pain / G. Descalzi [et al.] // *Trends Neurosci*. – 2015. – Vol. 38, N 4. – P. 237–246. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2015.02.001>
4. Безуглов, В. В. Биоактивные амиды жирных кислот / В. В. Безуглов, М. Ю. Бобров, А. В. Арчаков // *Биохимия*. – 1998. – Т. 63, № 1. – С. 27–37.
5. Lipid transmitter signaling as a new target for treatment of cocaine addiction: new roles for acylethanolamides and lysophosphatidic acid / L. Orío [et al.] // *Curr. Pharmaceut. Design*. – 2013. – Vol. 19, N 40. – P. 7036–7049. <https://doi.org/10.2174/138161281940131209143421>
6. Ezzili, C. Fatty acid amide signaling molecules / C. Ezzili, K. Otrubova, D. L. Boger // *Bioorg. Med. Chem. Lett*. – 2010. – Vol. 20, N 20. – P. 5959–5968. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.08.048>
7. Keppel Hesselink, J. M. Evolution in pharmacologic thinking around the natural analgesic palmitoylethanolamide: from nonspecific resistance to PPAR- α agonist and effective nutraceutical / J. M. Keppel Hesselink // *J. Pain Res*. – 2013. – Vol. 2013, N 6. – P. 625–634. <https://doi.org/10.2147/jpr.s48653>
8. Технический кодекс установившейся практики. ТКП 125-2008 (02040) Надлежащая лабораторная практика / М-во здравоохранения Респ. Беларусь. – Минск : [б. и.], 2008. – 35 с.
9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimentation and other scientific purposes, Strasbourg, 18.03.1986 // *Eur. Treaty Series*. – 1986. – N 123. – 11 p.
10. Protocol of Amendment to the European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, Strasbourg, 22.06.1998 // *Eur. Treaty Series*. – 1998. – N 170. – 3 p.
11. Bennett, G. J. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man / G. J. Bennett, Y. K. Xie // *Pain*. – 1988. – Vol. 33, N 1. – P. 87–107. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(88\)90209-6](https://doi.org/10.1016/0304-3959(88)90209-6)
12. Jaggi, A. S. Animal models of neuropathic pain / A. S. Jaggi, V. Jain, N. Singh // *Fund. Clin. Pharmacol*. – 2011. – Vol. 25, N 1. – P. 1–28. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2009.00801.x>
13. Palmitoylethanolamide restores myelinated-fibre function in patients with chemotherapy-induced painful neuropathy / A. Truini [et al.] // *CNS Neurol. Disorders Drug Targets*. – 2011. – Vol. 10, N 8. – P. 916–920. <https://doi.org/10.2174/187152711799219307>

References

1. Schmäder K. E. Epidemiology and impact on quality of life of postherpetic neuralgia and painful diabetic neuropathy. *Clinical Journal of Pain*, 2002, vol. 18, no. 6, pp. 350–354. <https://doi.org/10.1097/00002508-200211000-00002>
2. Werhagen L., Budh C. N., Hultling C., Molander C. Neuropathic pain after traumatic spinal cord injury: relations to gender, spinal level, completeness, and age at the time of injury. *Spinal Cord*, 2004, vol. 42, no. 12, pp. 665–673. <https://doi.org/10.1038/sj.sc.3101641>
3. Descalzi G., Ikegami D., Ushijima T., Nestler E. J., Zachariou V., Narita M. Epigenetic mechanisms of chronic pain. *Trends in Neuroscience*, 2015, vol. 38, no. 4, pp. 237–246. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2015.02.001>
4. Bezuglov V. V., Bobrov M. Yu., Archakov A. V. Bioactive amides of fatty acids. *Biokhimiya* [Biochemistry], 1998, vol. 63, no. 1, pp. 27–37 (in Russian).
5. Orío L., Pavón F., Blanco E., Serrano A., Araos P., Pedraz M., Rivera P., Calado M., Suárez J., Fonseca F. Lipid transmitter signaling as a new target for treatment of cocaine addiction: new roles for acylethanolamides and lysophosphatidic acid. *Current Pharmaceutical Design*, 2013, vol. 19, no. 40, pp. 7036–7049. <https://doi.org/10.2174/138161281940131209143421>
6. Ezzili C., Otrubova K., Boger D. L. Fatty acid amide signaling molecules. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2010, vol. 20, no. 20, pp. 5959–5968. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.08.048>
7. Keppel Hesselink, J. M. Evolution in pharmacologic thinking around the natural analgesic palmitoylethanolamide: from nonspecific resistance to PPAR- α agonist and effective nutraceutical. *Journal of Pain Research*, 2013, vol. 2013, no. 6, pp. 625–634. <https://doi.org/10.2147/jpr.s48653>
8. *Technical code of established practice. TCH 125-2008 (02040) Good laboratory practice*. Minsk, Publishing house of Ministry of Health of the Republic of Belarus, 2008. 35 p. (in Russian).
9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimentation and other scientific purposes, Strasbourg, 18.03.1986. *European Treaty Series*, 1986, no. 123. 11 p.
10. Protocol of Amendment to the European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, Strasbourg, 22.06.1998. *European Treaty Series*, 1998, no. 170. 3 p.
11. Bennett G. J., Xie Y. K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*, 1988, vol. 33, no. 1, pp. 87–107. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(88\)90209-6](https://doi.org/10.1016/0304-3959(88)90209-6)
12. Jaggi A. S., Jain V., Singh N. Animal models of neuropathic pain. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 2011, vol. 25, no. 1, pp. 1–28. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2009.00801.x>
13. Truini A., Biasiotta A., di Stefano G., la Cesa S., Leone C., Cartoni C., Federico V., Petrucci M. T., Cruccu G. Palmitoylethanolamide restores myelinated-fibre function in patients with chemotherapy-induced painful neuropathy. *CNS and Neurological Disorders Drug Targets*, 2011, vol. 10, no. 8, pp. 916–920. <https://doi.org/10.2174/187152711799219307>

Информация об авторах

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

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

Пехтерева Елена Ивановна – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: Eleivatar88@list.ru

Антипова Ольга Александровна – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mayuha23@icloud.com

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

Павлють Татьяна Олеговна – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tanja281286@mail.ru

Василькевич Алексей Игоревич – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь)

Кисель Михаил Александрович – д-р хим. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь)

Information about the authors

Alla Ju. Molchanova – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alla@fizio.bas-net.by

Irina P. Zhavoronok – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: iri8308@yandex.ru

Elena I. Pekhtereva – Junior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Eleivatar88@list.ru

Ol'ga A. Antipova – Junior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mayuha23@icloud.com

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

Tat'yana O. Pavlyut' – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tanja281286@mail.ru

Aleksey I. Vasil'kevich – Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus)

Mikhail A. Kisel' – D. Sc. (Chem.), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus)

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 618.2/7-089.888
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-339-346>

Поступила в редакцию 30.05.2018
Received 30.05.2018

Н. П. Гончарук¹, Е. Ю. Гурженко²

¹Киевский городской родильный дом № 1, Киев, Украина

²Национальная медицинская академия последипломного образования им. П. Л. Шупика, Киев, Украина

АНАЛИЗ АБДОМИНАЛЬНЫХ РОДОРАЗРЕШЕНИЙ ПО ПОКАЗАНИЯМ СО СТОРОНЫ МАТЕРИ

Аннотация. Изучено изменение показателей частоты кесаревых сечений, установлена динамика частоты плановых и urgentных абдоминальных родоразрешений, структура кесаревых сечений, проведенных по показаниям со стороны матери, а также частоты абдоминальных родоразрешений, выполненных по причине несостоятельности рубца на матке за период 2001–2011 гг.

Установлено повышение частоты кесаревых сечений, а также положительная динамика увеличения частоты плановых оперативных вмешательств. За исследуемый период частота кесаревых сечений, выполненных по причине несостоятельности рубца на матке, выросла в 4,7 раза.

Ключевые слова: кесарево сечение, показания к кесареву сечению, оперированная матка

Для цитирования: Гончарук, Н. П. Анализ абдоминальных родоразрешений по показаниям со стороны матери / Н. П. Гончарук, Е. Ю. Гурженко // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 339–346. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-339-346>

N. P. Goncharuk¹, O. Yu. Gurzhenko²

¹Kiev City Maternity Hospital no. 1, Kiev, Ukraine

²P. L. Shupik National Medical Academy of Postgraduate Education, Kiev, Ukraine

ANALYSIS OF ABDOMINAL DELIVERY ACCORDING TO THE MOTHER'S REASONS

Abstract. The present work studied the changes in the frequency of caesarean sections and established the dynamics of frequency of planned and urgent caesarean sections, the structure of caesarean section in the mother's interests, and also the level of caesarean section for the reason of insolvency of uterus cicatrix for the period of 2001–2011 at the Kiev Municipal Maternity Hospital no. 1.

The increase in the frequency of caesarean sections is marked. The positive dynamics of growth of planned operative interferences frequency attracts attention. For the studied period, the level of frequency of caesarean sections for the reason of uterus cicatrix insolvency increased 4.7 times.

Keywords: caesarean section, caesarean section according to the mother's reasons, operated uterus

For citation: Goncharuk N. P., Gurzhenko O. Yu. Analysis of abdominal delivery according to the mother's reasons. *Vestsi Natsyyanal'най akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 339–346 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-2-339-346>

Введение. Кесарево сечение – одна из самых популярных операций в современном акушерстве, что свидетельствует о возрастании числа абдоминального родоразрешения во всем мире. Так, в Украине средняя частота кесаревых сечений колеблется в пределах 16–22 %. Наиболее высок этот показатель в городах и экономически более развитых регионах страны. В России частота операций в среднем составляет 17 %, а в отдельных родовспомогательных учреждениях достигает 40,3 % [1]. В мире данный показатель составляет 12–27 % [2, 3]. При этом отмечается тенденция к увеличению числа кесаревых сечений, особенно в Турции и Бразилии. Этому способствуют такие факторы, как улучшение медицинской, а именно акушерской, помощи, совершенствование анестезиологической поддержки, большой выбор лекарственных средств для обезболивания, антибактериальной поддержки, клиничко-лабораторное и технологическое мониторингирование пред-, интра- и послеоперационного периодов [3–7].

В настоящее время на научно-практических съездах и конгрессах вопрос частоты кесаревых сечений относят к числу приоритетных. Исследуются причины, разрабатываются пути снижения частоты кесаревых сечений, анализируются результаты, внедряются новейшие технологии. Одним словом, все усилия ученых направлены на возвращение к наиболее естественному процессу рождения потомства [1–3, 7].

Поскольку с каждым годом уровень оперативного родоразрешения растет, возникает новая проблема, а именно ведение беременности и родов у женщин с рубцом на матке. Последний в структуре показаний к кесареву сечению во многих странах занимает первое место. Материнская заболеваемость при повторной операции в 3–4 раза выше, чем при родах через естественные родовые пути. Нельзя не отметить, что частота интраоперационных осложнений при повторном кесаревом сечении превышает данный показатель при выполнении первого кесарева сечения в несколько раз [4–6, 8, 9].

Новейшие технологии и оборудование, используемые в гинекологии, позволяют на этапе прегравидарной подготовки оценить состояние миометрия и, соответственно, спрогнозировать возможные осложнения. При этом следует отметить, что использование имеющихся в настоящее время методов исследований (клинических, инструментальных (УЗИ, гистероскопия, МРТ) и лабораторных) не всегда позволяет объективно оценить состоятельность миометрия в родах, но даже косвенная оценка миометрия дает возможность проводить роды через естественные родовые пути у женщин с рубцом на матке. В первую очередь это связано с тем, что на сегодняшний день не разработаны четкие универсальные, доступные для каждого метода исследования критерии диагностики состоятельности и несостоятельности рубца на матке. Во-вторых, отдельно каждый метод исследования часто малоинформативен, отсутствует четкая корреляция между результатами различных диагностических методов [1, 4–6, 8, 9].

Цель нашей работы – анализ частоты, динамики и структуры кесаревых сечений, выполненных как по показаниям со стороны матери, так и по причине несостоятельности рубца на матке, на основании историй родов рожениц Киевского городского родильного дома № 1 за 10 лет (2001–2011 гг.).

Материалы и методы исследования. В ходе исследования изучена и проанализирована частота кесаревых сечений, определен процент плановых операций, изучена структура кесаревых сечений, выполненных по показаниям со стороны матери, установлена частота кесаревых сечений при несостоятельности рубца на матке. При анализе использовали истории родов рожениц Киевского городского родильного дома № 1 за 10 лет (2001–2011 гг.), роды которых закончились путем кесарева сечения.

Результаты и их обсуждение. За исследуемый период установлено, что средний показатель частоты кесаревых сечений составил 18,8 %. Нельзя утверждать, что данный показатель был достаточно вариабельным. Максимальный показатель частоты кесаревых сечений был на 2,5 % выше, чем средний, – 21,3 % в 2008 г., минимальный же в 2001 и 2003 гг. составлял 17,0 %, что на 1,8 % ниже среднего.

Анализ полученных данных показал, что четкая тенденция к увеличению или снижению частоты кесаревых сечений отсутствует. Однако следует отметить, что к 2008 г. частота абдоминального родоразрешения росла, пик пришелся именно на 2008 г. Затем данный показатель начал постепенно уменьшаться – с 21,3 % в 2008 г. до 17,8 % в 2011 г. (рис. 1). К сожалению, данные за последних 3 года не являются показательными и полностью достоверными, чтобы утверждать четкое установление тенденции к снижению частоты кесаревых сечений. В то же время есть надежда на стабилизацию данной тенденции, что приведет в дальнейшем к росту количества родов через естественные родовые пути и уменьшению, в соответствии с мировыми стандартами, количества операций. Именно с этой целью в Киевском городском родильном доме № 1 были утверждены, а затем и внедрены локальные протоколы по ведению родов у женщин с рубцом на матке, основанные на протоколах по оказанию акушерско-гинекологической помощи населению Министерства здравоохранения.

Особого внимания заслуживали плановые и urgentные операции, результаты которых также были изучены. Необходимо отметить, что за период с 2002 по 2006 г. уровень плановых кесаре-

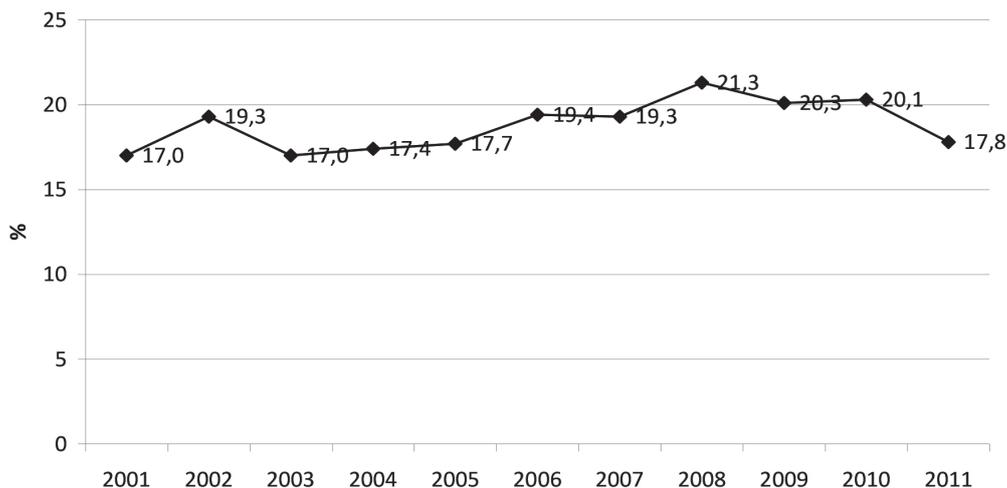


Рис. 1. Частота кесаревых сечений за период с 2001 по 2011 г., %

Fig. 1. Frequency of cesarean sections from 2001 to 2011, %

вых сечений был ниже уровня ургентных почти вдвое. Максимальная разница (34,6 %) наблюдалась в 2006 г. Но в дальнейшем частота плановых кесаревых сечений постепенно увеличивалась, а в 2010 г. даже превысила частоту ургентных на 1,5 %. С нашей точки зрения, данная тенденция связана с менее агрессивной и более выжидательной тактикой ведения родов, с уменьшением использования родоиндуцирующих и родостимулирующих препаратов в последние годы.

Классификаций показаний к абдоминальному родоразрешению в настоящее время достаточно много. Рассмотрим некоторые из них. Различают показания к кесареву сечению как со стороны матери, так и со стороны плода. Рубец на матке является одним из основных показаний со стороны матери, поэтому была проанализирована частота кесаревых сечений по этому показателю (рис. 2). Как следует из рис. 2, уровень данного показателя достаточно высок, но нестабилен, особенно в начале исследуемого периода. Средняя частота кесаревых сечений, выполненных по показаниям со стороны матери, за исследуемый период составила 50,4 % (минимальный показатель (2005 г.) – 41,9 %, максимальный (2011 г.) – 61,1 %). В течение 6 лет частота кесаревых сечений, выполненных по показаниям со стороны матери, находилась ниже отметки в 50 %. Но начиная с 2005 г. отмечалось постепенное увеличение данного показателя до 19,2 %.

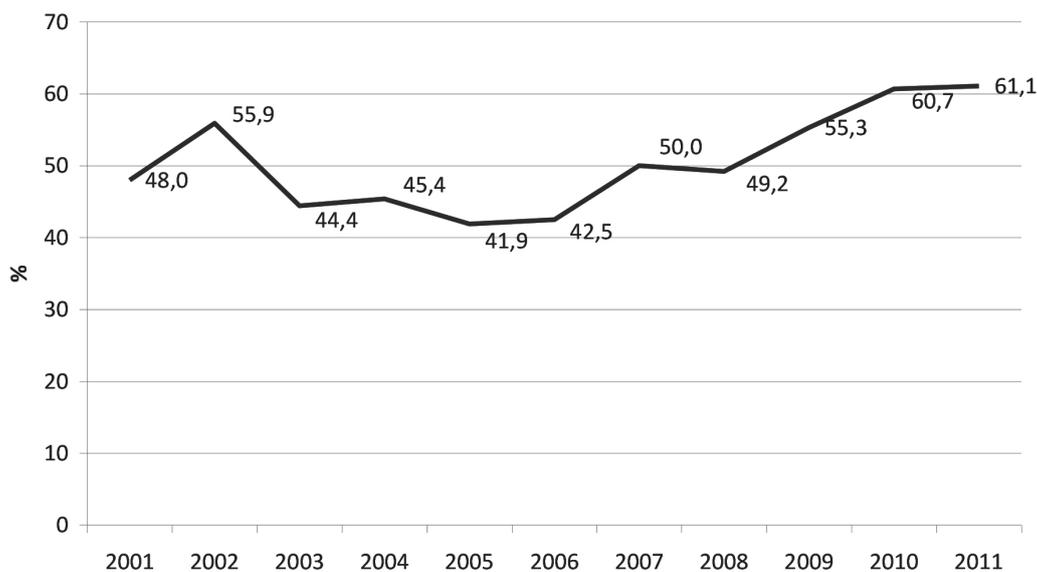


Рис. 2. Частота кесаревых сечений по показаниям со стороны матери за период с 2001 по 2011 г., %

Fig. 2. Frequency of caesarean sections according to the mother's indications during the period from 2001 to 2011, %

Анализ структуры показаний к кесареву сечению показал, что основными показаниями для родоразрешения абдоминальным путем со стороны матери являются следующие (рис. 3):

1. Клинически узкий таз.
2. Преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты.
3. Аномалии родовой деятельности, не поддающиеся медикаментозной коррекции.
4. Несостоятельность рубца на матке.
5. Экстрагенитальная патология при наличии записи соответствующего специалиста.

К ургентным показаниям к кесареву сечению относятся три первых показания, к плановым – два последних.

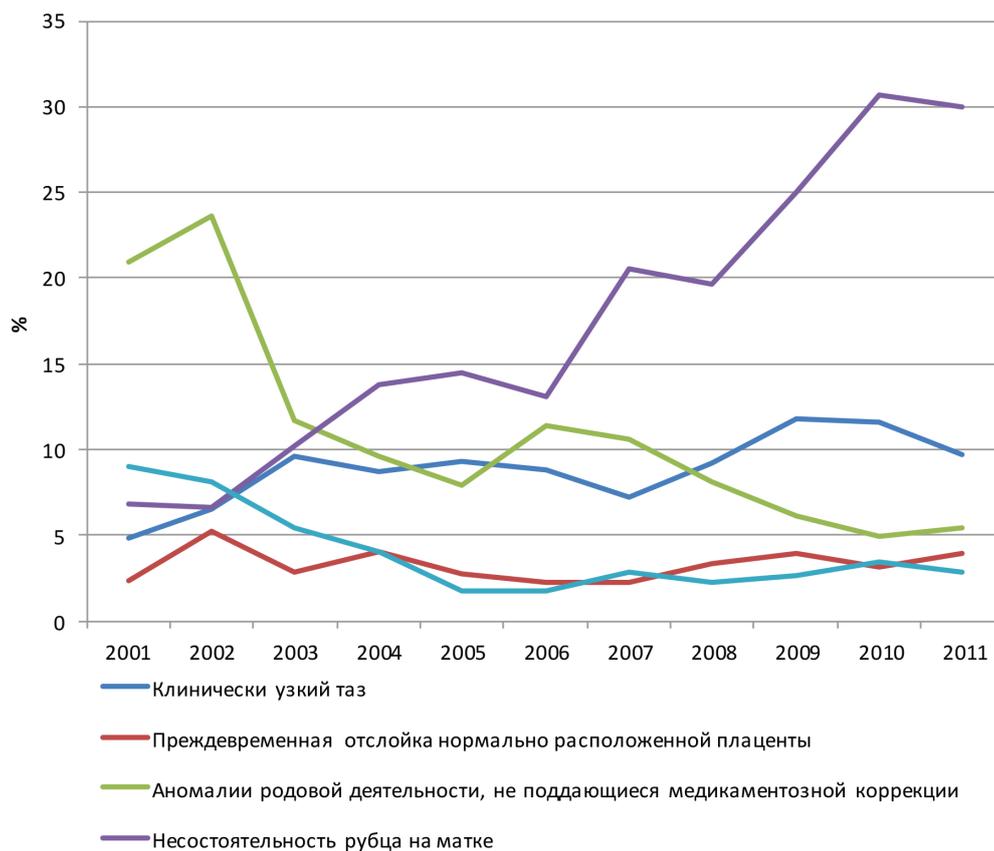


Рис. 3. Структура кесаревых сечений по показаниям со стороны матери за 2001–2011 гг., %
Fig. 3. Structure of caesarean sections according to the mother's indications from 2001 to 2011, %

Представленный на рис. 3 график демонстрирует достаточно хаотичную вариабельность. Поскольку установить общую для всех показаний тенденцию к уменьшению или увеличению частоты кесаревых сечений не представляется возможным, необходимо установить роль каждого из них.

Клинически узкий таз – это достаточно субъективный диагноз, и именно профессионализм акушера-гинеколога, который ставит данный диагноз, позволяет избежать таких осложнений, как разрыв матки, дистресс плода и т. д. Не существует инструментальных и лабораторных исследований, подтверждающих данный диагноз.

Изученный показатель был достаточно вариабельным. Частота кесаревых сечений по этому показанию в 2001 г. была низкой (4,8 %). В дальнейшем она постепенно росла и ее максимум в 2009 г. составил 11,8 %. Таким образом, за 9 лет показатель вырос вдвое. За 2010–2011 гг. уровень кесаревых сечений несколько уменьшился, но совсем незначительно (до 9,7 % в 2011 г.).

Преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты – грозное осложнение беременности и родов. Кесарево сечение является единственным правильным вариантом родоразре-

шения. По мировым данным, их частота составляет около 5 %. Анализ показал, что уровень оперативного родоразрешения почти константный, варьирования незначительные. Частота кесаревых сечений составляла в основном 2,3–3,1 %, однако отмечались незначительные ее повышения (до 5,2 % в 2002 г.) и снижения (до 2,2 % в 2006–2007 гг.).

В настоящее время существует около 20 различных классификаций аномалий родовой деятельности, но все они сводятся к 4 основным вариантам [10].

1. Патологический прелиминарный период.

2. Дискоординация родовой деятельности: I стадия – тоническая, II – спастическая, III – тетаническая.

3. Слабость родовой деятельности: первичная, вторичная, слабость потуг.

4. Чрезмерно сильная родовая деятельность.

В МКБ 10-го пересмотра предлагают следующую классификацию:

062 Нарушения родовой деятельности (родовых сил).

062.0 Первичная слабость родовой деятельности.

062.1 Вторичная слабость родовой деятельности.

062.2 Другие виды слабости родовой деятельности.

062.3 Стремительные роды.

062.4 Гипертонические, некоординированные и затянувшиеся сокращения матки.

062.8 Другие нарушения родовой деятельности.

062.9 Нарушение родовой деятельности неуточненное.

063 Затяжные роды.

063.0 Затянувшийся первый период родов.

063.1 Затянувшийся второй период родов.

063.2 Задержка рождения второго плода из двойни, тройни и т. д.

063.9 Затяжные роды неуточненные.

Анализ показателей кесарева сечения по причине аномалий родовой деятельности отдельно по каждому из видов аномалий не проводили, так как это не являлось целью исследования. Проведен только анализ общего для всех аномалий показателя. Так, картина уровня кесаревых сечений по такому показателю, как аномалии родовой деятельности, не поддающиеся медикаментозной коррекции, очень наглядная. Установлена четкая тенденция к снижению частоты оперативных вмешательств за годы исследования. Наивысшим данный показатель был в 2002 г. – 23,6 %, но уже в следующем 2003 г. он уменьшился более чем вдвое – до 11,7 %. В дальнейшем сохранилась положительная динамика уменьшения частоты, однако темпы снижения не были столь значительными, наблюдался даже небольшой пик (максимально до 11,4 %) в 2006–2007 гг. И уже в 2011 г. частота кесаревых сечений составляла четвертую часть от начальной (5,4 %).

Также проведен анализ данных по кесаревым сечениям при экстрагенитальной патологии при наличии записи соответствующего специалиста о показании к кесареву сечению. Необходимо отметить положительную тенденцию к снижению частоты кесаревых сечений. Максимально высоким данный показатель был в 2001 г. – 9 %. В дальнейшем он снижался. Низкой частота кесаревых сечений была в 2005–2006 гг. – 1,7 %, что в 5,3 раза меньше начального уровня. Далее данный показатель несколько вырос, но этот рост был незначительным (примерно на 1 %). Средняя частота кесаревых сечений за последние годы исследуемого периода составила 2,8 %.

Эти данные свидетельствуют о том, что смежные специалисты более адекватно оценивают состояние беременной, прежде чем дать заключение о необходимости кесарева сечения. В государственных учреждениях осуществляются более глубокий инструментально-лабораторный контроль и тщательное обследование, так как заключение, выданное частным специалистом, юридической силы не имеет.

Несостоятельность рубца на матке – это достаточно дискуссионное показание к абдоминальному родоразрешению. Проанализирована частота кесаревых сечений при данной акушерской патологии (рис. 4).

Анализ данных по кесаревым сечениям вследствие несостоятельности рубца на матке указывает на тенденцию к увеличению уровня оперативного родоразрешения за исследуемый период.

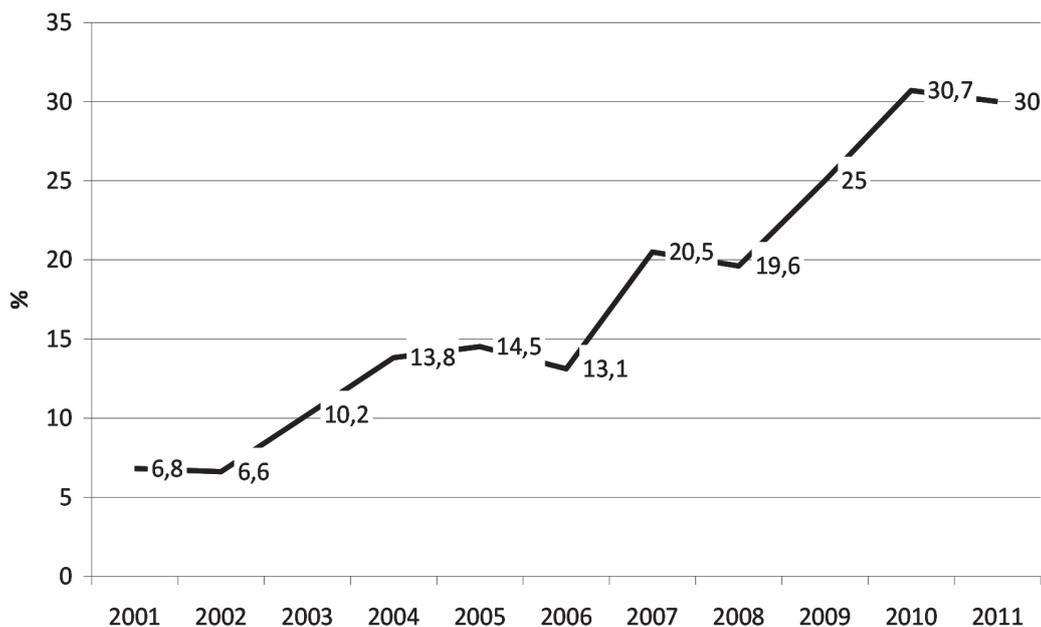


Рис. 4. Частота кесаревых сечений при несостоятельности рубца на матке за период с 2001 по 2011 г., %

Fig. 4. Frequency of caesarean sections in case of incompetence of the uterus scar from 2001 to 2011, %

Эти данные четко демонстрирует приведенный на рис. 4 график. Итак, самый низкий показатель наблюдался в начале исследуемого периода – 6,6–6,8 %. В дальнейшем уровень оперативного родоразрешения рос из года в год. За 2 года показатель удвоился, составив 13,8 % в 2004 г., а за 5 лет вырос втрое, составив 20,5 % в 2007 г. В течение следующих 3 лет частота кесаревых сечений увеличилась почти на 10 %. Всего с 2001 по 2011 г. показатель абдоминального родоразрешения вырос на 23,8 %, что достаточно существенно изменило статистику показаний. Так, данные, которые превалировали в начале исследуемого периода, заняли последние места в списке показаний. И наоборот, показания, по которым меньше проводили абдоминальных родоразрешений, стали основными.

В настоящее время частота кесаревых сечений растет и наблюдается тенденция к стабильному ее повышению. Специалисты находят новые возможности, способствующие рождению детей через естественные родовые пути, разрабатывают современные методы исследования и постановки более точных диагнозов. Однако поскольку эти усилия пока не имеют общемирового признания, необходимо активнее работать в этом направлении во избежание 100 %-ного рождения детей абдоминальным путем в будущем.

Причиной сложившейся ситуации является, с одной стороны, лояльное отношение общества и врачей акушеров-гинекологов к кесареву сечению как к рутинной манипуляции, с другой стороны, нежелание женщины рожать через естественные родовые пути из-за страхов, основанных на недостоверной, неквалифицированной информации от знакомых-непрофессионалов, из Интернета. В то же время в каждой стране разрабатываются свои протоколы ведения родов и показания к кесареву сечению. Необходимо популяризировать эту информацию среди населения. Кстати, в последнее время квалифицированные специалисты в полном объеме делятся информацией на множестве форумов, сайтов, в блогах с целью предупредить возникновение заблуждений по вопросам ведения родов, медикаментозной поддержки, показаний и противопоказаний к кесареву сечению, обезболивания родов. На официальном сайте Киевского городского роддома № 1 также существует форум для будущих и настоящих родителей, где акушер-гинекологи, анестезиологи и неонатологи дают ответы на любые вопросы.

Анализ полученных данных показывает, что количество женщин с рубцами на матке растет. И дело не только в повышенной оперативной активности при ведении родов, но и в использовании современных методов хирургического лечения гинекологической патологии тела матки, та-

ких как гистеро-, лапароскопические консервативные миомэктомии. Таким образом, возникает *circulus vitiosus* – увеличение частоты кесаревых сечений и использование различных хирургических техник способствует росту числа женщин с оперированной маткой. До недавнего времени таким беременным в 100 % случаев проводилось повторное кесарево сечение. На данном этапе развития и совершенствования акушерской помощи диагноз «рубец на матке» не является показанием к обязательному кесареву сечению, хотя необходимо учитывать множество факторов, прежде чем разрешить беременной с рубцом на матке рожать через естественные родовые пути.

Одной из причин нежелания женщин с рубцом на матке рожать *per vias naturales* является страх перед болью, которая сопровождает роды. Ведь раньше считалось, что обезболивание родов у женщин с оперированной маткой опасно, так как основным признаком угрозы разрыва матки считалась боль по ходу рубца, а потому обезболивать роды у женщины с рубцом на матке невозможно. Однако в последнее время используется рациональный подход к обезболиванию родов, особенно у женщин с оперированной маткой. Учитывается как желание женщины, так и акушерская ситуация. Поэтому своевременная и профессионально проведенная эпидуральная аналгезия дает возможность роженице отдохнуть, сохраняет ее силы для второго периода родов, а также положительным образом влияет на общее впечатление от родов через естественные родовые пути.

Сейчас все больше женщин с рубцом на матке хотят рожать самостоятельно, что возможно при наличии двух необходимых условий – профессиональной, высококвалифицированной помощи медицинского персонала и желания женщины. Корректное ведение родов, адекватное обезбоживание, уверенность и осведомленность женщины являются залогом успешного родоразрешения. Целью всех нововведений, исследований и основным вопросом научных конгрессов, конференций, симпозиумов является здоровье матери и ребенка. Поэтому необходимо прилагать максимум усилий для его сохранения.

Выводы

1. Уровень абдоминального родоразрешения является стабильным. При этом следует отметить положительную динамику по снижению (примерно на 2,5 %) уровня кесаревых сечений за последние несколько лет. Средний показатель частоты кесаревых сечений достаточно высокий – 18,8 %. Поэтому основным приоритетом последнего времени является разработка оптимальных путей снижения частоты кесаревых сечений.

3. В течение 6 лет частота кесаревых сечений по показаниям со стороны матери находилась ниже отметки в 50 % (средняя частота – 50,4 %).

4. Установлена структура показаний к кесареву сечению со стороны матери. Основными показаниями для родоразрешения абдоминальным путем со стороны матери являются: клинически узкий таз, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, аномалии родовой деятельности, не поддающиеся медикаментозной коррекции, несостоятельность рубца на матке, экстрагенитальная патология при наличии записи соответствующего специалиста. При этом доминирование одних показаний в начале второго десятилетия в XXI в. меняется на их дэскалацию в конце этого десятилетия. Аномалии родовой деятельности, не поддающиеся медикаментозной коррекции, составляли львиную долю всех оперативных родоразрешений в 2001–2002 гг. (23,6 %), а в 2009–2011 гг. их место заняла несостоятельность рубца на матке (30,6 %). При отслойке нормально расположенной плаценты уровень кесаревых сечений достаточно стабилен.

5. В последние годы из всех показаний для кесарева сечения основным является несостоятельность рубца на матке (30 % в 2011 г.). Самый низкий показатель (6,6–6,8 %) наблюдался в начале исследуемого периода, максимальный (30,7 %) – в 2010 г. Всего с 2001 по 2011 г. показатель абдоминального родоразрешения вырос на 23,8 %.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Акушерство / Г. М. Савельева [и др.]. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 651 с.
2. Кир, Р. М. Миф об идеальной частоте кесарева сечения: комментарий и историческая перспектива / Р. М. Кир // Мед. аспекты здоровья женщины. – 2006. – № 3 (3). – С. 70–74.

3. Caesarean section in the world: a new ecological approach / A. Zizza [et al.] // *J. Prevent. Med. Hyg.* – 2011. – Vol. 52, N 4. – P. 161–73. <https://doi.org/10.15167/2421-4248/jpmh2011.52.4.287>
4. Кулаков, В. И. Кесарево сечение / В. И. Кулаков, Е. А. Чернуха, Л. М. Комиссарова. – М. : Медицина, 1998. – 192 с.
5. Лепихов, С. В. Критерии родоразрешения кесаревым сечением: показания и последствия / С. В. Лепихов // *Актуальні проблеми сучас. медицини : вісн. укр. мед. стоматол. акад.* – 2009. – Т. 9, № 4, ч. 2. – С. 52–55.
6. Пирогова, В. И. Оперативное родоразрешение / В. И. Пирогова // *Здоров'я України.* – 2011. – № 1. – С. 18–20.
7. Steven, W. A. Оперативное родоразрешение / W. Steven // *Акушерство и гинекология : диагностика и лечение: в 2 т. / ред. : А. Х. ДеЧерни, Л. Натан.* – М., 2008. – Т. 1 : Акушерство. – С. 658–672.
8. Алгоритмы и тактика ведения патологических родов : метод. рек. / Е. В. Мозговая [и др.]. – СПб. : Н-Л, 2010. – 56 с.
9. Павлова, Т. Ю. Клинико-морфологические аспекты рубца на матке после кесарева сечения / Т. Ю. Павлова, В. А. Аргунов, Р. Д. Филиппова // *Сибир. мед. журн.* – 2007. – № S2. – С. 10–12.
10. Акушерство. Клинические лекции / О. В. Макаров [и др.] ; под ред. О. В. Макарова. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 630 с.

References

1. Savel'eva G. M., Shalina R. I., Sachinava L. G., Panina O. B., Kurtser M. A. *Obstetrics*. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2009. 651 p. (in Russian).
2. Kir R. M. The myth about the ideal frequency of cesarean section: a commentary and an historical perspective. *Medit-sinskie aspekty zdorov'ya zhenshchiny* [Medical aspects of women's health], 2006, no. 3 (3), pp. 70–74 (in Russian).
3. Zizza A., Tinelli A., Malvasi A., Barbone E., Stark M., De Donno A., Guido M. Caesarean section in the world: a new ecological approach. *Journal of preventive medicine and hygiene*, 2011, vol. 52, no. 4, pp. 161–73. <https://doi.org/10.15167/2421-4248/jpmh2011.52.4.287>
4. Kulakov V. I., Chernukha E. A., Komissarova L. M. *Cesarean section*. Moscow, Meditsina Publ., 1998. 192 p. (in Russian).
5. Lepikhov S. V. Cesarean delivery criteria: evidence and consequences. *Aktual'ni problemi suchasnoi meditsini: visnik ukrains'koï medichnoi stomatologichnoi akademii* [Actual problems of modern medicine: bulletin of the Ukrainian Medical Stomatological Academy], 2009, vol. 9, no. 4, pt. 2, pp. 52–55 (in Russian).
6. Pirogova V. I. Operational delivery. *Zdorov'ya Ukraini* [Health of Ukraine], 2011, no. 1, pp. 18–20 (in Russian).
7. Steven W. Operational delivery. *Obstetrics and Gynecology: Diagnosis and Treatment. Vol. 1. Obstetrics*. Moscow, 2008, pp. 658–672 (in Russian).
8. Mозgovaya E. V., Abramchenko V. V., Kuz'minykh T. U., Kramareva N. L. *Algorithms and tactics of conducting pathological births*. St. Petersburg, N-L Publ., 2010. 56 p. (in Russian).
9. Pavlova T. Yu., Argunov V. A., Filippova R. D. Clinico-morphological aspects of the scar on the uterus after cesarean section. *Sibirskii meditsinskii zhurnal* [Siberian Medical Journal], 2007, no. S2, pp. 10–12 (in Russian).
10. Makarov O. V., Ozolinya L. A., Kerchelaeva S. B., Bakhareva I. V., Ivanova O. G., Kozlov P. V., Nikolaev N. N., Slasten O. P., Volkova E. V., Idrisova L. S. *Obstetrics. Clinical lectures*. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2007. 630 p. (in Russian).

Информация об авторах

Гончарук Наталья Петровна – канд. мед. наук, главврач. Киевский городской родильный дом № 1 (ул. Арсенальная, 5, г. Киев, Украина). E-mail: kmpb1@ukr.net

Гурженко Елена Юрьевна – канд. мед. наук, ассистент. Национальная медицинская академия последипломного образования им. П. Л. Шупика (ул. Дорогожичская, 9, г. Киев, Украина). E-mail: 7espoir@rambler.ru

Information about the authors

Natalya P. Goncharuk – Ph. D. (Med.), Chief doctor. Kiev City Maternity Hospital no. 1 (5, Arsenalnaya Str., Kiev, Ukraine). E-mail: kmpb1@ukr.net

Elena Yu. Gurzhenko – Ph. D. (Med.), Assistant. P. L. Shupik National Medical Academy of Postgraduate Education (9, Dorogozhitskaya Str., Kiev, Ukraine). E-mail: 7espoir@rambler.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 612.345:616-005.3
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-347-353>

Поступила в редакцию 05.10.2017
Received 05.10.2017

Т. Е. Кузнецова, Е. Л. Рыжковская, Е. И. Калиновская

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОМ РУСЛЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Аннотация. Проведено комплексное гистологическое, гистохимическое, электронно-микроскопическое исследование состояния микроциркуляторного русла поджелудочной железы крыс и сопряженные преобразования в паренхиме органа после моделирования метаболического синдрома с использованием диеты с высоким содержанием жиров и углеводов. Выявлен спазм артериол, краевое стояние лейкоцитов, десквамация эндотелиоцитов в просвет сосуда, стаз эритроцитов в капиллярах. В эндотелиальных клетках капилляров отмечались признаки повышенного транспорта веществ через стенки сосудов: пиноцитоз, фенестрация, разрыхленность базальных мембран. Капилляры заполнены форменными элементами крови, на люминальной поверхности эндотелиоцитов наблюдалось выпячивание ядер, образование складок, выростов цитоплазмы в просвет сосуда. В эндотелиоцитах сосудов микроциркуляторного русла параллельно происходило ускорение окисления глюкозы как в цикле Кребса, так и по гликолитическому пути, что указывает на то, что энергообеспечение клеток осуществлялось на более высоком уровне. Нарушения микроциркуляции сопровождались очаговыми деструктивными и воспалительными изменениями в паренхиме органа.

Ключевые слова: поджелудочная железа, метаболический синдром, микроциркуляция, эндотелий, ультраструктура

Для цитирования: Кузнецова, Т. Е. Структурные изменения в микроциркуляторном русле поджелудочной железы крыс с экспериментальным метаболическим синдромом / Т. Е. Кузнецова, Е. Л. Рыжковская, Е. И. Калиновская // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 347–353. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-347-353>

T. E. Kuznetsova, E. L. Ryzhkovskaya, E. I. Kalinovskaya

Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

STRUCTURAL CHANGES IN THE MICROCIRCULATORY BED OF THE PANCREAS IN RATS WITH EXPERIMENTAL METABOLIC SYNDROME

Abstract. A complex histological, histochemical and electron microscopic study of the state of the microcirculatory bed of the pancreas and conjugate transformations in the parenchyma of the organ after modeling the metabolic syndrome using a diet high in fats and carbohydrates was carried out. Spasm of arterioles, the marginal state of leukocytes and the desquamation of endotheliocytes into the lumen of a vessel, the stasis of erythrocytes in capillaries were revealed. The endothelial cells of capillaries had signs of increased transport of substances through the vessel walls: pinocytosis, fenestration, loosening of basal membranes. It was observed that capillaries are filled with shaped blood elements, on the luminal surface of endotheliocytes nuclei are protruded and the cytoplasm outgrowth into the lumen of the vessel is formed. At the same time, glucose oxidation accelerated both in the Krebs cycle and along the glycolytic pathway in the endotheliocytes of the vessels of the microcirculatory bed, indicating that the energy was supplied to the cells at a higher level. Disturbances of microcirculation were accompanied by focal destructive and inflammatory changes in the parenchyma of the organ.

Keywords: pancreas, metabolic syndrome, microcirculation, endothelium, ultrastructure

For citation: Kuznetsova T. E., Ryzhkovskaya E. L., Kalinovskaya E. I. Structural changes in the microcirculatory bed of the pancreas in rats with experimental metabolic syndrome. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 347–353 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-347-353>

Введение. Проблема метаболического синдрома (МС), представляющего собой комплекс нарушений углеводного и липидного обмена, привлекает особое внимание. В основе этих нарушений лежит инсулинорезистентность. Для проявления МС характерны наличие абдоминального ожирения, дислипидемии, артериальной гипертензии, нарушения толерантности к глюкозе или

сахарного диабета второго типа. В большинстве работ, посвященных МС, его главным патогенетическим фактором считают ожирение [1–3]. Нарушение липидного обмена является одним из основных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний [4]. Ключевую роль в патогенезе атеросклероза, артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца играет эндотелиальная дисфункция, характеризующаяся нарушением регуляции сосудистого тонуса, продукции оксида азота, неадекватным образованием в эндотелии различных биологических веществ и повышением сосудистой проницаемости [5–7].

Функциональное состояние поджелудочной железы имеет значительный удельный вес в развитии основных составляющих МС (гиперинсулинемии, инсулинорезистентности, нарушения толерантности к глюкозе). И наоборот, существующие метаболические изменения (ожирение, атерогенная дислипидемия) способствуют нарушению ее эндокринной и экзокринной функций. Предполагается, с одной стороны, основополагающая роль жировой болезни поджелудочной железы в развитии метаболических нарушений с формированием синдрома инсулинорезистентности, а с другой стороны, указывается, что гиперинсулинемия, гипергликемия и дислипидемия, а также микроциркуляторные нарушения отягощают ее состояние. Пусковым механизмом прогрессирования патологии органа при МС выступает воспаление, тесно сопряженное с жировой инфильтрацией органа на фоне ожирения. Изменения железы, характерные для МС, не только вторичны на его фоне, но и способствуют прогрессированию данного синдрома и развитию осложнений, замыкая патогенетический круг.

Результаты исследований морфологических изменений и функционального состояния поджелудочной железы при ожирении приводятся в ряде экспериментальных работ [8–10]. В этих работах показана достоверная связь между режимом питания и стеатозом поджелудочной железы с последующим развитием дисфункции β -клеток и формированием сахарного диабета второго типа. Происходит гидролиз триглицеридов панкреатической липазой и накопление в поджелудочной железе свободных жирных кислот, которые влияют как на клетки, так и на капилляры органа. В результате развивающейся ишемии возникает ацидоз, при котором усиливается токсичность свободных жирных кислот, приводящая к нарушению целостности клеточных мембран клеток поджелудочной железы. Авторы также указывают на повышенную вязкость крови из-за высокого уровня хиломикрон, что, в свою очередь, также может стать причиной нарушения микроциркуляции в органе и его ишемии.

Состояние микроциркуляторного русла определяет функциональную активность поджелудочной железы как органа и влияет на выраженность гуморальной связи между элементами экзокринной и эндокринной паренхимы. В своей работе А. М. Чернух с соавт. [11] указывали, что микроциркуляторная система с ее центральной частью (капиллярами) составляет единое функциональное целое с клетками стромы и паренхимы органа или клетками тканевого комплекса, который она обслуживает. В связи с этим патологические изменения в окружающих микрососудах тканей всегда влияют на состояние микроциркуляции, и наоборот. Таким образом, существенные преобразования в гемомикроциркуляторном русле органа могут явиться пусковым фактором развития дезадаптивных изменений в клетках паренхимы поджелудочной железы.

Цель настоящей работы – изучение состояния микроциркуляторного русла поджелудочной железы и сопутствующих преобразований в паренхиме органа при моделировании метаболического синдрома у крыс.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проведены на крысах-самцах линии Wistar с начальной массой тела 200–250 г. Животных контрольной группы ($n = 10$) содержали в условиях вивария при температуре $22 \pm 1,0$ °С при стандартном пищевом режиме и свободном доступе к воде. Моделирование МС ($n = 10$) осуществляли посредством 8-недельной диеты с высоким содержанием жиров и углеводов [12]. Животным в стационарных условиях со свободным доступом к воде и пище дополнительно добавляли 38 % (от суточной калорийности) жиров и 17 % (от суточной калорийности) углеводов, а питьевую воду замещали 10 %-ным раствором фруктозы.

Для светооптической микроскопии использовали рутинную окраску гематоксилином и эозином, с помощью которой оценивали общий план строения железы, наличие или отсутствие воспаления, повреждения и репарации клеток. Гранулы в панкреоцитах выявляли с помощью окраски

паральдегидфуксином, которая также позволяет выявить эластические волокна, тучные клетки (лаброциты). Для оценки содержания липидов в тканях органа использовали окраску суданом III.

Активность ферментов, характеризующих метаболическую активность эндотелиальных клеток артериол поджелудочной железы (сукцинат- и лактатдегидрогеназы) определяли в криостатных срезах тетразолиевым методом по методике Лойда [13], в основе которой лежит применение унифицированного основного раствора, к которому добавляются растворы соответствующего субстрата и кофермента.

Для исследования микропрепаратов, морфометрии и изготовления микрофотографий использовали световой микроскоп MPV-2 (Leitz, Германия), оснащенный цифровой фотокамерой Leica DC300F (Leitz, Швейцария). Оцифрованные изображения записывали на компьютер с помощью программы Leica IM 1000 (Leitz, Швейцария) и затем обрабатывали, используя программу Image J (National Institutes of Health, США). Активность определяемых ферментов оценивали по оптической плотности продукта реакции в цитоплазме, выражая результаты в условных единицах оптической плотности. Статистическую обработку материала осуществляли с помощью пакета статистических программ Statistica 6 (Statsoft Inc., США). Полученные данные обработаны дескриптивными методами и представлены в виде средней арифметической и ее стандартной ошибки ($M \pm m$). О достоверности различий судили по *t*-критерию Стьюдента.

Для электронно-микроскопического исследования кусочки средней части поджелудочной железы заливали в аралдит по общепринятой схеме, изложенной в руководстве Н. Н. Боголепова. Срезы готовили на ультратоме марки ЛКВ, контрастировали цитратом свинца. Электронные микрофотографии изготавливали с помощью просвечивающего электронного микроскопа JEM-100 CX (производитель JEOL, Япония).

Эксперименты проводили с соблюдением правовых и этических норм обращения с животными в соответствии с национальными и международными стандартами качества планирования и проведения исследований на животных

Результаты и их обсуждение. Гистоархитектоника поджелудочной железы после моделирования МС в целом соответствовала критериям физиологической нормы (рис. 1). Паренхима поджелудочной железы крыс опытной группы была разделена на дольки, которые состояли из групп ацинусов. Дольки отделялись друг от друга соединительно-тканной прослойкой, в которой располагались нервы, сосуды и выводные протоки. После моделирования МС выявлялись выраженный интерстициальный отек органа, расширение межацинарных пространств (рис. 1, *b*). Панкреатические островки были окружены тонкими коллагеновыми и эластическими волокнами, имели округлую форму. Островковые клетки визуально имели более светлую окраску по сравнению с клетками ацинусов. Границы между ними были нечеткими.

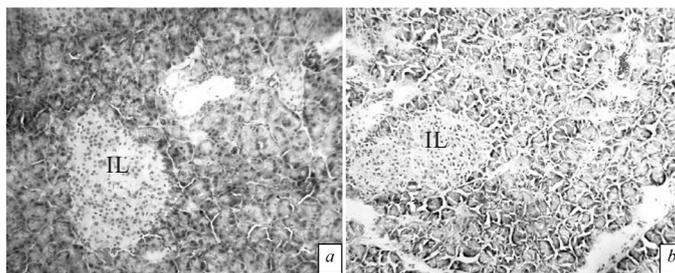


Рис. 1. Поджелудочная железа крысы: *a* – на стандартном рационе питания, *b* – после моделирования метаболического синдрома. IL – островки Лангерганса. Окраска: паральдегидфуксин. $\times 100$

Fig. 1. Rat's pancreas: *a* – standard diet, *b* – after modeling the metabolic syndrome. IL – islets of Langerhans, paraldehyde fuchsin stain. $\times 100$

Сосуды микроциркуляторного русла экзокринной части железы в основном сужены (рис. 2, *a, b*), часто окружены липидными каплями. Наблюдался выраженный периваскулярный отек (рис. 2, *a*). В просветах артериол иногда выявлялись отслоившиеся эндотелиоциты, в венах наблюдалось краевое стояние полиморфноядерных лейкоцитов и лимфоцитов. В некоторых участках железы в капиллярах отмечалась агрегация эритроцитов, иногда выявлялся диапедез

эритроцитов (рис. 2, *b*). В периваскулярном пространстве обнаруживались многочисленные тучные клетки, иногда с признаками дегрануляции (рис. 2, *c*). Капилляры островков Лангерганса преимущественно расширены, с набухшими эндотелиоцитами (рис. 2, *d*).

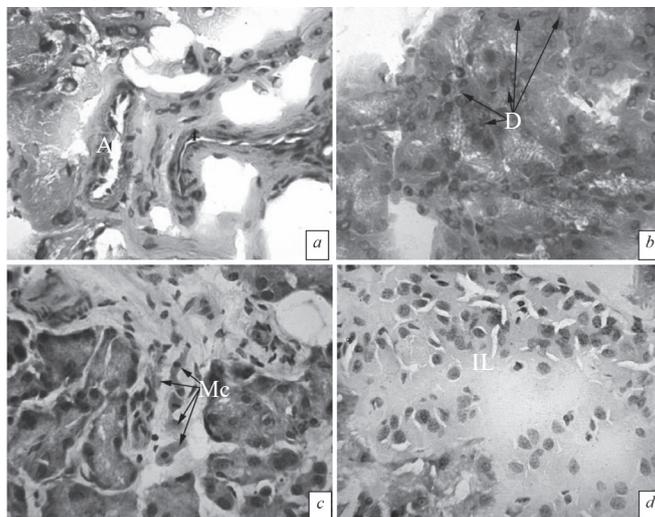


Рис. 2. Микроциркуляторное русло поджелудочной железы крысы после моделирования метаболического синдрома. А – артериолы, D – диапедезные кровоизлияния, Mc – тучные клетки, IL – островок Лангерганса. Окраска: гематоксилин–эозин (*a, b*), паральдегидфуксин (*c, d*). $\times 400$

Fig. 2. Microcirculatory bed of the rat's pancreas when modeling the metabolic syndrome. A – arterioles, D – diapedesis hemorrhages, Mc – mast cells, IL – islet of Langerhans. Hematoxylin–eosin stain (*a, b*), paraldehyde-fuchsin stain (*c, d*). $\times 400$

По данным гистологического исследования, структурные изменения паренхимы экзокринной части органа носили очаговый характер (рис. 3, *a*). В отдельных дольках обнаружены дистрофические изменения цитоплазмы ацинарных клеток в виде их вакуольной дистрофии (рис. 3, *b*). В строме органа вблизи сосудов и протоков наблюдалась преимущественно умеренная диффузная лейкоцитарная инфильтрация. Вместе с тем встречались значительные очаговые скопления лимфоцитарного инфильтрата (рис. 3, *c*). Среди паренхимы экзокринной части железы обнаруживались единичные тучные клетки (рис. 3, *d*). Нарушение строения островков Лангерганса на отдельных участках проявлялось межклеточным отеком и умеренной воспалительной инфильтрацией (см. рис. 2, *d*).

При изучении препаратов поджелудочной железы, окрашенных суданом, выявлялся липоматоз междольковых пространств с единичными круглоклеточными воспалительными инфильтратами в жировой клетчатке. Отмечено также появление липидов внутри сосудов поджелудочной железы.

Моделирование МС вызывало перестройку ультраструктурной организации ацинарных клеток поджелудочной железы, затрагивающую все ее элементы. Клетки находились в различном функциональном состоянии. Большинство их уменьшались в объеме за счет снижения содержания секреторных гранул зимогена. В ряде ацинарных клеток отмечалась повышенная дегрануляция шероховатого ретикулама без значительного расширения цистерн и трансформация шероховатых вакуолей в гладкие по периферии комплекса Гольджи, а также повышенная осмиофилия мембранных структур клетки (рис. 4, *a*). Митохондрии выглядели гипертрофированными (рис. 4, *c*), а ядра этих клеток – сморщенными, с признаками кариопикноза. В других клетках ядра крупные, овальной формы, с крупными ядрышками. Митохондрии мелкие, с осмиофильным матриксом (рис. 4, *b*). Крупные жировые капли в одиночку или группами располагались среди мембран шероховатой эндоплазматической сети базальных отделов, тесно соприкасаясь с ее мембранами и митохондриями (рис. 4, *a, b*). Нередко липосомы окружены плотным кольцом рибосом, что может указывать на начальные признаки развития жировой дистрофии ацинарных клеток.

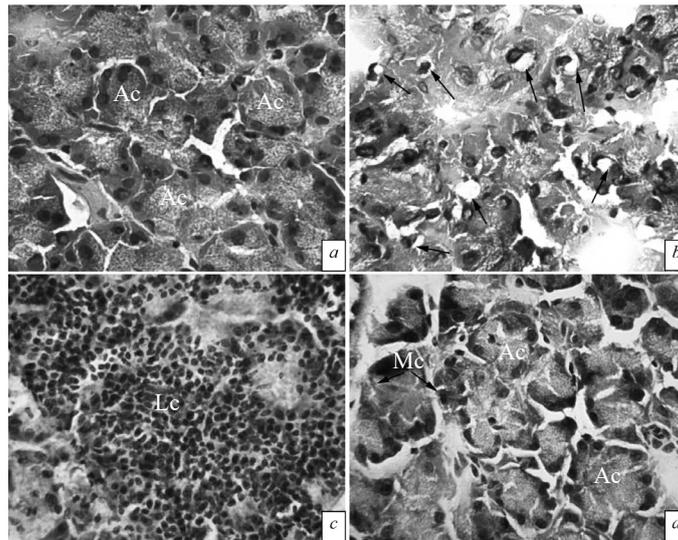


Рис. 3. Поджелудочная железа крысы после моделирования метаболического синдрома. Ас – ацинусы, стрелки – вакуоли в цитоплазме ацинарных клеток, Lc – лимфоциты, Mc – тучные клетки. Окраска: гематоксилин–эозин (a, b), паральдегидфуксин (c, d). ×400

Fig. 3. Rat's pancreas after modeling the metabolic syndrome: A – acini, the arrows show vacuoles in the cytoplasm of acinar cells, Lc – lymphocytes, Mc – mast cells. Hematoxylin–eosin stain (a, b), paraldehyde-fuchsin stain (c, d). ×400

В островках Лангерганса существенных изменений ультраструктуры β-клеток не выявлено (рис. 4, d). Отмечалось лишь опустошение незначительного числа секреторных гранул и умеренное расширение цистерн эндоплазматического ретикулума, что может указывать на повышенную функциональную активность β-инсулоцитов в условиях поступления в организм дополнительных углеводов и жиров.

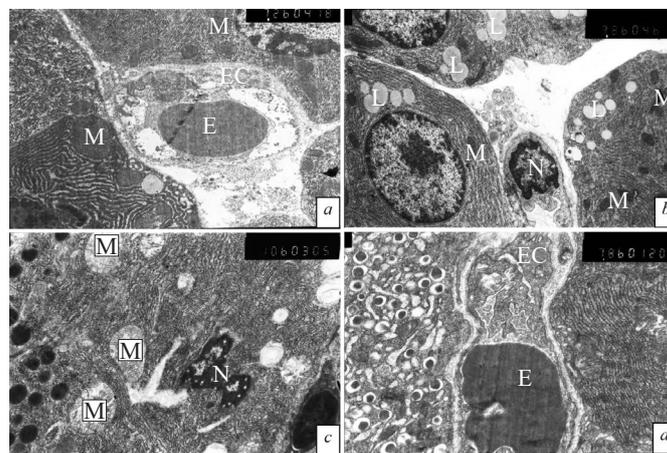


Рис. 4. Ультраструктура паренхимы и микроциркуляторного русла поджелудочной железы крысы после моделирования метаболического синдрома. L – липосомы, M – митохондрии, EC – эндотелиальные клетки, E – эритроциты, N – ядро. ×7200 (a, b, d), ×10 000 (c)

Fig. 4. Ultrastructure of the parenchyma and microcirculatory bed of the rat's pancreas after modeling the metabolic syndrome: L – liposomes, M – mitochondria, EC – endothelial cells, E – erythrocytes, N – nucleus. ×7200 (a, b, d), ×10 000 (c)

По данным электронно-микроскопического исследования микроциркуляторного русла поджелудочной железы, капилляры заполнены форменными элементами крови, эндотелиальные клетки образуют многочисленные выросты, направленные в просвет, что способствует увеличению обменной поверхности капилляров и может приводить к нарушению процессов микроциркуляции (рис. 4, a, b, d) [14]. Наблюдалось выпячивание ядерной зоны эндотелиоцитов в просвет капилляров, форма ядра менялась от овальной до округлой (рис. 4, b). В цитоплазме эндоте-

лиальных клеток располагались многочисленные мелкие и крупные пиноцитозные везикулы и крупные митохондрии, наблюдалось расширение их межклеточных щелей. В некоторых эндотелиоцитах отмечались вакуолизация и отек цитоплазмы (рис. 4, *a*). Базальная мембрана сосудов и основная мембрана ацинусов разрыхлены, местами плохо контурированы и слиты со слабо осмиофильным аморфным содержимым перикапиллярного пространства.

По данным гистохимического исследования, в эндотелиоцитах артериол поджелудочной железы после моделирования МС выявлено повышение активности ферментов углеводно-энергетического обмена по сравнению с контрольной группой. Активность ключевого фермента гликолиза – лактатдегидрогеназы повышена на 22 % ($p < 0,05$). Отмечалась также тенденция к возрастанию аэробного окисления глюкозы в цикле Кребса, на что указывало статистически не значимое повышение активности сукцинатдегидрогеназы на 7 % ($p > 0,05$).

Заключение. После моделирования метаболического синдрома верифицировали липоматоз междольковых пространств, накопление липидов в плазме крови. Морфофункциональные изменения в поджелудочной железе (спазм, краевое стояние лейкоцитов, гибель и слущивание эндотелиоцитов в просвет сосуда, стаз) выявлены во всех звеньях микроциркуляторного русла. В эндотелиоцитах сосудов микроциркуляторного русла параллельно обнаружено ускорение окисления глюкозы как в цикле Кребса, так и по гликолитическому пути, что указывает на то, что энергообеспечение клеток осуществляется на более высоком уровне. На электронно-микроскопическом уровне в эндотелиальных клетках капилляров выявлены признаки повышенного транспорта веществ через стенки сосудов: пиноцитоз, фенестрация, разрыхленность базальных мембран. Капилляры заполнены форменными элементами крови, на люминальной поверхности эндотелиоцитов наблюдалось образование складок, выростов цитоплазмы в просвет сосуда. В экзокринной паренхиме органа имелись признаки стеатоза и умеренного панкреатита.

Таким образом, выявленные в результате проведенного комплексного морфологического исследования сосудов микроциркуляторного русла поджелудочной железы после моделирования метаболического синдрома гистологические, гистохимические и ультраструктурные изменения можно расценивать как начальные признаки микроангиопатии. В свою очередь, нарушение микроциркуляции способствовало развитию ишемии, нарушению проницаемости клеточных мембран, деструкции ацинарных клеток, которые вызывают активацию панкреатических ферментов в протоках и паренхиме железы, приводя к возникновению отека, некроза и последующему фиброзу с экзокринной и эндокринной недостаточностью.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Лазебник, Л. Б. Метаболический синдром и органы пищеварения / Л. Б. Лазебник, Л. А. Звенигородская. – М. : Анахарсис, 2009. – 184 с.
2. Reaven, G. M. Insulin resistance: the link between obesity and cardiovascular disease / G. M. Reaven // *Med. Clin. North America*. – 2011. – Vol. 95, N 5. – P. 875–892. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2011.06.002>
3. Roberts, C. K. Oxidative stress and metabolic syndrome / C. K. Roberts, K. K. Sindhu // *Life Sci*. – 2009. – Vol. 84, N 21–22. – P. 705–712. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2009.02.026>
4. Adult Treatment Panel III 2001 but not International Diabetes Federation 2005 criteria of the metabolic syndrome predict clinical cardiovascular events in subjects who underwent coronary angiography / C. H. Saely [et al.] // *Diabetes Care*. – 2006. – Vol. 29, N 4. – P. 901–907. <https://doi.org/10.2337/diacare.29.04.06.dc05-2011>
5. Obesity, inflammation and endothelial dysfunction / M. Iantorno [et al.] // *J. Biol. Regul. Homeostatic Agents*. – 2014. – Vol. 28, N 2. – P. 169–176.
6. Бувальцев, В. И. Дисфункция эндотелия как новая концепция профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний / В. И. Бувальцев // *Междунар. мед. журн.* – 2001. – № 3. – С. 202–208.
7. Bagi, Z. Obesity and coronary microvascular disease – implications for adipose tissue-mediated remote inflammatory response / Z. Bagi, Z. Broskova, A. Feher // *Curr. Vasc. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 12, N 3. – P. 453–461. <https://doi.org/10.2174/1570161112666140423221843>
8. Nonalcoholic fatty pancreas disease / A. Mathur [et al.] // *HPB*. – 2007. – Vol. 9, N 4. – P. 312–318. <https://doi.org/10.1080/13651820701504157>
9. Kimura, W. Role of hypertriglyceridemia in the pathogenesis of experimental acute pancreatitis in rats / W. Kimura, J. Mössner // *Int. J. Gastrointest. Cancer*. – 1996. – Vol. 20, N 3. – P. 177–184. <https://doi.org/10.1007/bf02803766>

10. Islet adaptive changes to fructose-induced insulin resistance: b-cell mass, glucokinase, glucose metabolism, and insulin secretion / B. Maiztegui [et al.] // *J. Endocrinol.* – 2009. – Vol. 200, N 2. – P. 139–149. <https://doi.org/10.1677/joe-08-0386>
11. Чернух, А. М. Микроциркуляция / А. М. Чернух, П. Н. Александров, О. В. Алексеев. – М. : Медицина, 1975. – 456 с.
12. Experimental models of metabolic syndrome in rats / S. Gancheva [et al.] // *Scripta Scientifica Medica.* – 2015. – Vol. 47, N 2. – P. 23–30. <https://doi.org/10.14748/ssm.v47i2.1145>
13. Лойда, З. Гистохимия ферментов : лаб. методы / З. Лойда, Р. Госсрау, Т. Шиблер ; пер. с англ. И. Б. Бухвалова, О. В. Копьева. – М. : Мир, 1982. – 270 с.
14. Шахламов, В. А. Капилляры / В. А. Шахламов. – М. : ВЕДИ, 2007. – 287 с.

References

1. Lazebnik L. B., Zvenigorodskaya L. *Metabolic syndrome and digestive system.* Moscow, Anakharsis Publ., 2009. 184 p. (in Russian).
2. Reaven G. M. Insulin resistance: the link between obesity and cardiovascular disease. *Medical Clinics of North America*, 2011, vol. 95, no. 5, pp. 875–892. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2011.06.002>
3. Roberts C. K., Sindhu K. K. Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*, 2009, vol. 84, no. 21–22, pp. 705–712. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2009.02.026>
4. Saely C. H., Koch L., Schmid F., Marte T., Aczel S., Langer P., Hoeffle G., Drexel H. Adult Treatment Panel III 2001 but not International Diabetes Federation 2005 criteria of the metabolic syndrome predict clinical cardiovascular events in subjects who underwent coronary angiography. *Diabetes Care*, 2006, vol. 29, no. 4, pp. 901–907. <https://doi.org/10.2337/diacare.29.04.06.dc05-2011>
5. Iantorno M., Campia U., Di Daniele N., Nistico S., Forleo G. B., Cardillo C., Tesaro M. Obesity, inflammation and endothelial dysfunction. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 2014, vol. 28, no. 2, pp. 169–176.
6. Buvaltsev V. I. Endothelial dysfunction as the new concept for prevention and treatment of cardio-vascular diseases. *Mezhdunarodnyi meditsinskii zhurnal = International Medical Journal*, 2001, no. 3, pp. 202–208 (in Russian).
7. Bagi Z., Broskova Z., Feher A. Obesity and coronary microvascular disease – implications for adipose tissue-mediated remote inflammatory response. *Current Vascular Pharmacology*, 2014, vol. 12, no. 3, pp. 453–461. <https://doi.org/10.2174/1570161112666140423221843>
8. Mathur A., Marine M., Lu D., Swartz-Basile D. A., Saxena R., Zyromski N. J., Pitt H. A. Nonalcoholic fatty pancreas disease. *HPB*, 2007, vol. 9, no. 4, pp. 312–318. <https://doi.org/10.1080/13651820701504157>
9. Kimura W., Mössner J. Role of hypertriglyceridemia in the pathogenesis of experimental acute pancreatitis in rats. *International Journal of Gastrointestinal Cancer*, 1996, vol. 20, no. 3, pp. 177–184. <https://doi.org/10.1007/bf02803766>
10. Maiztegui B., Borelli M. I., Raschia M. A., Del Zotto H., Gagliardino J. J. Islet adaptive changes to fructose-induced insulin resistance: b-cell mass, glucokinase, glucose metabolism, and insulin secretion. *Journal of Endocrinology*, 2009, vol. 200, no. 2, pp. 139–149. <https://doi.org/10.1677/joe-08-0386>
11. Chernukh A. M., Aleksandrov P. N., Alekseev O. V. *Microcirculation.* Moscow, Meditsina Publ., 1975. 456 p. (in Russian).
12. Gancheva S., Zhelyazkova-Savova M., Galunska B., Chervenkov T. Experimental models of metabolic syndrome in rats. *Scripta Scientifica Medica*, 2015, vol. 47, no. 2, pp. 23–30. <https://doi.org/10.14748/ssm.v47i2.1145>
13. Lojda Z., Gossrau R., Schiebler T. H. *Enzyme histochemistry: a laboratory manual.* Berlin, Springer-Verlag, 1979. 344 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-67234-7>
14. Shakhlov V. A. *Capillaries.* Moscow, VEDI Publ., 2007. 287 p. (in Russian).

Информация об авторах

Кузнецова Татьяна Евгеньевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tania_k@mail.ru

Рыжковская Елена Леонидовна – ст. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ryzhkovskaya@mail.ru

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

Information about the authors

Tatiana E. Kuznetsova – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tania_k@mail.ru

Elena L. Ryzhkovskaya – Senior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ryzhkovskaya@mail.ru

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

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.133+616.132.3]-089

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-354-362>

Поступила в редакцию 18.10.2017

Received 18.10.2017

В. А. Янушко

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

ОДНОМОМЕНТНАЯ ХИРУРГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ПРИ СОЧЕТАННОМ ПОРАЖЕНИИ СОННЫХ И КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

Аннотация. Работа выполнена с целью определения эффективного и безопасного подхода к лечению пациентов с сочетанными патологиями сонных и коронарных артерий.

В период с 2006 по 2016 г. в ГУ РНПЦ «Кардиология» было прооперировано 207 пациентов с сочетанными патологиями сонных и коронарных артерий. Клинические данные пациентов включали: стенокардию напряжения функционального класса III, хроническую сердечную недостаточность NYHA III, одно- или двустороннее поражение внутренней сонной артерии, хроническую артериальную недостаточность нижних конечностей, сахарный диабет, хроническую болезнь почек. При выявлении конкурирующей патологии сонных и коронарных артерий пациентам выполняли одномоментную коррекцию для снижения количества периоперационных осложнений и во избежание летальности (каротидную эндартерэктомию сочетали с операцией на сердце), а при наличии соответствующих показаний аортокоронарное шунтирование дополняли коррекцией клапанного аппарата и/или пластикой аневризмы левого желудочка.

Анализ результатов хирургической коррекции патологий коронарных и сонных артерий при сочетанном их поражении показал безопасность и эффективность применяемого тактического подхода. Летальность и послеоперационные осложнения не превышали аналогичные показатели у пациентов, прооперированных только по поводу ишемической болезни сердца (летальность 2,9 %).

Таким образом, получен положительный результат при использовании данной тактики в лечении пациентов с ишемической болезнью и патологией сонной артерии.

Ключевые слова: одномоментная хирургическая коррекция, сочетанное поражение, коронарные артерии, сонные артерии, безопасный и эффективный подход, внутренняя сонная артерия, каротидная эндартерэктомия, аортокоронарное шунтирование, брахиоцефальные артерии

Для цитирования: Янушко, В. А. Одномоментная хирургическая коррекция при сочетанном поражении сонных и коронарных артерий / В. А. Янушко // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 354–362. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-354-362>

V. A. Yanushko

Republican Scientific and Practical Centre «Cardiology», Minsk, Republic of Belarus

ONE-STAGE SURGICAL CORRECTION IN CASE OF COMBINED LESIONS OF THE CAROTID AND CORONARY ARTERIES

Abstract. The aim of the work is to determine the most effective and safe approach to treatment of patients with combined pathologies of the carotid and coronary arteries.

For the period from 2006 to 2016 in the RSPC “Cardiology” was operated on 207 patients with concomitant pathologies of the carotid and coronary arteries. Clinical data of patients included: angina of FC III, chronic heart failure NYHA III, one – or 2-sided lesions of the internal carotid artery, chronic arterial insufficiency of the lower extremities, diabetes mellitus, chronic kidney disease. One-stage correction was performed in patients in cases of concomitant pathology of carotid and coronary arteries to reduce the number of perioperative complications and mortality: carotid endarterectomy combined with heart operation. Coronary artery bypass grafting was supplemented by correction of the valvular apparatus and/or left ventricular aneurysm plasty in identifying the relevant evidence.

We have analyzed the results of surgical correction of abnormalities of the coronary and carotid arteries combined with their defeat. It was shown the safety and effectiveness of tactical approach in the group of concomitant lesions in both arterial basins. Mortality and postoperative complications did not exceed those in patients operated just about ischemic heart disease (mortality of 2.9 %). This fact allows the authors to make a conclusion about the legality of the use of this tactic, with good immediate results.

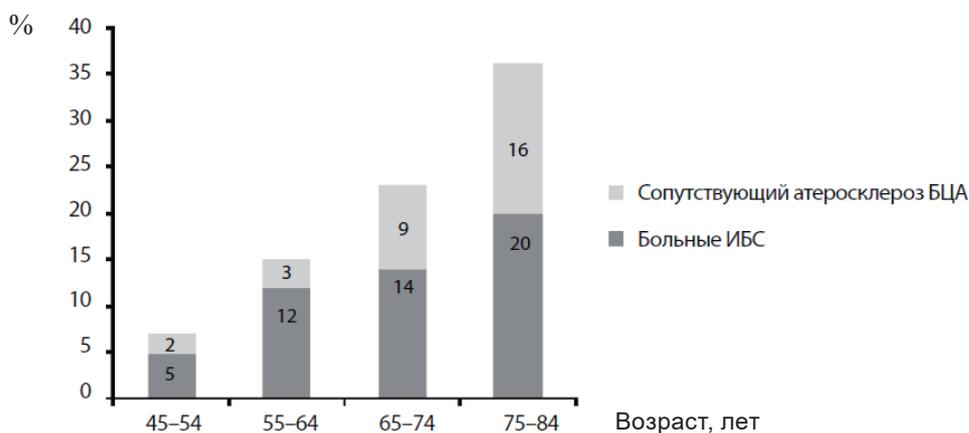
A positive result is obtained with the simultaneous approach in the treatment of patients with coronary artery disease and pathology of the carotid artery.

Keywords: one-stage surgical correction, the combined loss, coronary artery, carotid artery, a safe and effective approach, internal carotid artery, carotid endarterectomy, coronary artery bypass, brachiocephalic arteries

For citation: Yanushko V. A. One-stage surgical correction in case of combined lesions of the carotid and coronary arteries. *Vesti Natsyynal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 354–362 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-354-362>

Введение. В настоящее время ведутся дискуссии о наилучшем тактическом подходе к лечению пациентов с сопутствующей патологией сонных артерий (СА) и ишемической болезнью сердца (ИБС) [1–3] (см. рисунок). Частота стенозирования СА более чем у 50 % пациентов, подвергающихся аортокоронарному шунтированию (АКШ), составляет 3–22 % (по результатам исследования REACH – 8,4 %), частота периоперационного инсульта при коронарном шунтировании (КШ) с применением искусственного кровообращения (ИК) – от 1,5 до 5,2 %, а частота стенокардии напряжения функционального класса (ФК) II и выше у пациентов, которым проводится каротидная эндартерэктомия (КЭА), – до 40 % (у 28 % – множественное поражение коронарных артерий (КА)) [4–6].

Цель исследования – определить оптимальный с точки зрения эффективности и безопасности подход к лечению пациентов с манифестацией атеросклеротического поражения в каротидном и коронарном бассейнах.



Распространенность патологии в зависимости от возрастного показателя
Pathology prevalence depending on the age index

Материалы и методы исследования. В период с 2006 по 2016 г. в ГУ РНПЦ «Кардиология» было прооперировано 207 человек (78 % мужчин, 22 % женщин, средний возраст $62,1 \pm 6,5$ года) (табл. 1). Все обследуемые имели сочетанные патологии СА и КА. Были учтены клинические данные всех пациентов: у 166 (80 %) человек отмечалась клиника стенокардии напряжения ФК III и выше, у 42 (20 %) пациентов – клиника сердечной недостаточности NYHA (New York Heart Association) III и выше. Двустороннее поражение внутренней сонной артерии (ВСА) более 75 % наблюдалось у 54 (26 %) человек. Из сопутствующей патологии у 60 (29 %) пациентов отмечалась клиника хронической артериальной недостаточности нижних конечностей, у 52 (25 %) – сахарный диабет, у 29 (14 %) – хроническая болезнь почек (табл. 1).

В 94 % случаев выполняли эверсионную каротидную эндартерэктомию, затем переходили к этапу операции на сердце (табл. 2).

У 20 пациентов с двусторонним поражением ВСА (гетерогенные нестабильные бляшки) и тяжелой ИБС (сердечная недостаточность ФК III, множественные поражения КА) выполнено вмешательство по гибридной методике: стентирование ВСА на стороне большего поражения (на фоне расчетной гепаринизации организма), а затем (в тот же день) КЭА с другой стороны + АКШ (табл. 3).

После медианной стернотомии операцию проводили на аппарате ИК с применением системной гипотермии, поддерживаемой при 32 °С, используя двуступенчатые венозные и аортальные канюли. Среднее артериальное давление поддерживали на уровне 60 мм рт. ст.

Т а б л и ц а 1. Клинические данные пациентов в дооперационном периоде
 Table 1. Clinical characteristics of patients in the preoperative period

| Показатель | Число пациентов | |
|---|-----------------|------|
| | абс. | отн. |
| Мужчины | 207 | 78 |
| Женщины | | 22 |
| Сахарный диабет | 52 | 25 |
| Стенокардия напряжения ФК III | 166 | 80 |
| Хроническая сердечная недостаточность NYHA III | 42 | 20 |
| Двустороннее поражение ВСА >75 % | 54 | 26 |
| Хроническая артериальная недостаточность нижних конечностей | 60 | 29 |
| Хроническая болезнь почек | 29 | 14 |

Т а б л и ц а 2. Виды и количество оперативных вмешательств
 Table 2. Types and number of surgical interventions

| Вид оперативного вмешательства | Число пациентов | |
|--|-----------------|------|
| | абс. | отн. |
| Эверсионная каротидная эндалтерэктомия | 197 | 94 |
| Открытая каротидная эндалтерэктомия с пластикой заплатой | 12 | 6 |
| Пластика СА в условиях временного шунта | 6 | 3 |
| АКШ на работающем сердце | 68 | 32 |
| АКШ с ИК (АКШ + пластика митрального клапана и/или левого желудочка) | 142 | 68 |
| Среднее количество шунтов | 2,8 | – |

Т а б л и ц а 3. Тактика лечения сочетанного поражения сонных и коронарных артерий в РНЦ «Кардиология»

Table 3. Tactics of treatment of combined lesions of carotid and coronary arteries in RCPC "Cardiology"

| Односторонне поражение ВСА $\geq 70\%$ + поражение КА | Двусторонне поражение ВСА $\geq 70\%$ + поражение КА | | Двустороннее поражение ВСА $\geq 70\%$ + поражение КА |
|---|---|---|--|
| | Гибридный подход | Гибридный подход | |
| Одномоментная операция | Гибридный подход | Гибридный подход | Гибридный подход |
| КЭА + АКШ | Пластика сонных артерий на стороне большего поражения | Пластика сонных артерий с противоположной стороны + АКШ | Стентирование СА с одной стороны, в тот же день одномоментная операция: КЭА с другой стороны + АКШ |

Результаты и их обсуждение. Послеоперационная летальность составила 2,9 % (6 пациентов). Случаев летальности от острой недостаточности мозгового кровообращения (ОНМК) не было. Нефатальный инфаркт головного мозга развился у 9 (4,3 %) пациентов, острый инфаркт миокарда – у 10 (4,8 %), 4 из которых умерли (табл. 4).

Т а б л и ц а 4. Тяжелые осложнения в послеоперационном периоде
 Table 4. Severe complications in the postoperative period

| Показатель | Число пациентов | |
|-------------------------------------|-----------------|------|
| | абс. | отн. |
| Послеоперационная летальность | 6 | 2,9 |
| Нефатальный инфаркт головного мозга | 9 | 4,3 |
| Острый инфаркт миокарда | 10 | 4,8 |

В раннем послеоперационном периоде другие осложнения отмечены у 71 (34,5 %) пациента (табл. 5); пароксизмы мерцательной аритмии – у 25 (12 %); постперикардотомный синдром, потребовавший плевральных пункций, – у 44 (21 %); другие осложнения – у 12 (6 %) пациентов (анемия – у 3, декомпенсация сахарного диабета – у 4, явления почечной недостаточности – у 3, диастаз грудины – у 2). Средний срок пребывания в стационаре после операции составил 11,1 сут. За счет КЭА продолжительность операций возросла в среднем на 40 ± 10 мин, однако срок пребывания пациента в стационаре не увеличился, составив в среднем 11 сут.

Т а б л и ц а 5. Другие осложнения в послеоперационном периоде
T a b l e 5. Other complications in the postoperative period

| Показатель | Число пациентов | |
|----------------------------------|-----------------|------|
| | абс. | отн. |
| Всего пациентов | 71 | 34,5 |
| Пароксизм мерцательной аритмии | 25 | 12 |
| Постперикардиотомный синдром | 44 | 21 |
| Другие | 12 | 6 |
| В том числе: | | |
| анемия | 3 | |
| декомпенсация сахарного диабета | 4 | |
| явления почечной недостаточности | 3 | |
| диастаз грудины | 2 | |

В настоящее время основными хирургическими тактиками одномоментной операции являются пластика СА до стернотомии, затем АКШ; КЭА и АКШ на работающем сердце; одномоментные вмешательства с двухсторонней КЭА. Применяются также этапные операции (например, первый этап – реконструкция брахиоцефальных артерий, второй этап – АКШ), а также гибридные операции (одномоментные стентирования СА и АКШ в гибридных операционных; стентирование СА с последующим АКШ в один день [6–8]).

Несмотря на то что данные об эффективности данной методики накапливались в течение трех десятилетий, необходимо выяснить, как сочетается КЭА с АКШ. Кроме того, сообщалось, что риск цереброваскулярных событий, которые являются одним из основных предикторов прогноза АКШ, увеличился до 14 % у пациентов с тяжелым стенозом СА (>80 %). В течение 3 лет сочетанный риск ИМ/ОНМК/смерти вследствие кардиоваскулярных событий составляет 25 % у пациентов с поражением одного артериального бассейна и 41 % у лиц с поражением трех артериальных бассейнов [9–13].

Периоперативные церебральные события, такие как инсульт после АКШ, являются основными неврологическими осложнениями, частота которых увеличивается с возрастом. Несмотря на снижение общих осложнений спустя годы после проведенного АКШ, частота инсульта остается относительно неизменной [9, 14–16]. Этиология периоперативного инсульта является многофакторной, включающей в себя гипотонию или гипоперфузию, индуцированную уменьшенным потоком мозгового кровообращения, атеросклерозом вследствие микро- или макроэмболизации, а также внутри- или внечерепными сосудистыми заболеваниями. Кроме того, заболевание СА является критическим фактором, который, однако, считается маловероятным, чтобы быть единственной причиной периоперативных инсультов. В нашем центре риск неврологических и кардиальных осложнений стратифицируется по специальной шкале (табл. 6).

Т а б л и ц а 6. Критерии стратификации риска неврологических и кардиальных осложнений
T a b l e 6. Criteria for stratifying a risk of neurologic and cardiac complications

| Метод исследования, тест | Критерии высокого риска | Критерии низкого риска |
|---|--|---|
| Дуплексное сканирование | Критический стеноз ВСА более 85 %; окклюзия ВСА; бикаротидные стенозы | Стеноз ВСА 50–60 % |
| ТКДГ | Критический стеноз СМА, ПМА или ЗМА | Отсутствие поражения |
| Индекс фотореактивности (норма – 25 %) | Парадоксальная реакция (ниже 0) | Выше 15 % |
| Капнопроба (норма – 3,2 см/с/мм рт. ст. CO ₂) | Ниже 1 | Выше 1,5 |
| Модифицированная проба Матаса | Положительная и условно-положительная | Отрицательная |
| МРТ головного мозга | Наличие очага размером более 3 см | Отсутствие очага |
| МРТ-ангиография | Критический стеноз ВСА более 85 %; окклюзия ВСА; критический стеноз СМА, ПМА или ЗМА | Стеноз ВСА 50–60 %; отсутствие поражения в интракраниальных отделах |
| Ангиография БЦА | Критический стеноз ВСА более 85 %; окклюзия ВСА; бикаротидные стенозы; критический стеноз СМА, ПМА или ЗМА | Стеноз ВСА 50–60 %; отсутствие поражения в интракраниальных отделах |

Окончание табл. 6

| Метод исследования, тест | Критерии высокого риска | Критерии низкого риска |
|-----------------------------------|--|---|
| Перфузионная КТ | Наличие зоны пенумбры более 3 см | Отсутствие поражения |
| Оценка клинических проявлений ИБС | Нестабильная стенокардия, стенокардия III–IV ФК | Отсутствие клинических проявлений ишемии миокарда; стенокардия I–II ФК |
| ЭхоКГ | Выраженная дисфункция ЛЖ в покое (ФВ менее 40 %); аневризма ЛЖ | ФВ ЛЖ более 50 % |
| Стресс-тесты | Низкая толерантность к физической нагрузке (1–2 степень), положительная проба; признаки обширной ишемии миокарда ЛЖ по данным стресс-ЭхоКГ | Высокий порог толерантности к физической нагрузке, отрицательная или сомнительная проба |
| Коронарография (КГР) | Стеноз ствола ЛКА; трехсосудистое поражение основных коронарных артерий; двухсосудистое поражение с выраженной дисфункцией миокарда | Стенозы I–II степени в 1–2 коронарных артериях; поражение ветвей второго порядка |

Примечание. ПМА, СМА, ЗМА – передняя, средняя и задняя мозговые артерии соответственно, ФВ – фракция выброса, ЛЖ – левый желудочек, ФК – функциональный класс, МРТ – магнитно-резонансная томография, КТ – компьютерная томография, ЛКА – левая коронарная артерия.

Хотя консенсуса относительно оптимальной стратегии хирургической коррекции сочетанной патологии СА и ишемической болезнью не достигнуто, одномоментная КЭА и АКШ закрепили за собой низкий показатель смертности и заболеваемости [17–24].

С возрастом возрастает и степень стеноза ВСА у пациентов. М. Gaudino с соавт. [25] сообщают о распространенности каротидных стенозов и сужении просвета сосудов ВСА более чем у 50 % пациентов, которым планировалось аортокоронарное шунтирование. I. Fukuda с соавт. [26] выявили подобные каротидные стенозы у 14,3 % пациентов, перенесших АКШ. В исследовании А. Drohomirecka с соавт. [27] распространенность каротидных стенозов была еще выше – 18 %. N. R. Hertzler с соавт. [25] выполнил КГР у 200 пациентов с поражением ВСА без клинических проявлений ИБС. У 14 % не обнаружено патологии КА, у 40 % критический стеноз наблюдался хотя бы одной КА, у 46 % выявлено поражение двух КА, хирургическая коррекция потребовалась 16 % пациентов. Периоперативная профилактика кардиоваскулярных и церебральных событий до сих пор остается предметом дискуссии. Нижнее среднее артериальное давление сердечно-легочного шунтирования, системный вазодилатационный ответ и эмболия бляшек во время аортального пережатия увеличивают риск развития оперативного инсульта у пациентов с АКШ. В течение 3 лет сочетанный риск ИМ/ОНМК/смерти вследствие кардиоваскулярных событий составляет 25 % для пациентов с поражением одного артериального бассейна и 41 % с поражением трех артериальных бассейнов [23–24, 26–36].

Кроме того, по мере роста заболеваемости (на 7–8 %), обусловленного периоперационным ИМ, пациентам, нуждающимся в АКШ с отдельным этапом КЭА, в настоящее время обычно рекомендуются одномоментная КЭА и АКШ.

Нет единого мнения об оптимальном подходе к лечению пациентов с сопутствующей патологией СА и ИБС. Хирурги должны учитывать ряд клинических параметров при выборе одномоментного или поэтапного подхода. Послеоперационный ИМ был зарегистрирован у 3,8 % пациентов с симптомами и у 1 % бессимптомных пациентов с ИБС, которые прошли КЭА, а затем АКШ. С другой стороны, частота случаев периоперационного инсульта заметно возрастает у пациентов со стенозом СА (80 % случаев и более), что предполагает поэтапный подход [21–24]. Однако частота сердечно-сосудистых событий связана главным образом с эмболией и низкой частотой тромбоза у пациентов, подвергающихся плановой операции АКШ. С. W. Akins [29] и G. D. Trachiotis с соавт. [29] и сообщили, что одновременный подход был эффективным в снижении церебральных и сердечно-сосудистых осложнений. Кроме того, Takach с соавт. [31] показали, что одновременное вмешательство было столь же безопасным, как и поэтапный подход у пациентов с высоким риском, что соответствовало нашим результатам исследования.

Тем не менее, несмотря на увеличение числа исследований, свидетельствующих о преимуществах одновременного подхода, в национальных и международных руководствах еще не до-

стигнут консенсус из-за отсутствия перспективных рандомизированных клинических испытаний. По этой причине было рекомендовано одновременное введение КЭА и АКШ у бессимптомных пациентов с двусторонней тяжелой патологией брахиоцефальных артерий.

Заключение. Пациентам с клиникой сочетанного поражения коронарных и каротидных артерий показано выполнение одномоментных оперативных вмешательств на двух сосудистых бассейнах, что позволяет избежать потенциальных осложнений со стороны некорректируемого бассейна при этапных операциях. Частота осложнений (летальность, ОНМК, ИМ и др.) после одномоментных операций не превышает частоту осложнений после этапных операций и соответствует данным, приведенным в литературе. Повторной госпитализации пациента для следующего этапа хирургического лечения не требуется.

Как показывают полученные нами результаты, одномоментную хирургическую коррекцию сочетанных патологий коронарных и сонных артерий в виде КЭА и АКШ можно выполнять безопасно и с минимальным риском периоперативного летального исхода. Кроме того, такая тактика повышает комфорт пациента, поскольку анестезия назначается один раз (две операции выполняются за один сеанс). В связи с этим нами рекомендуется одновременный подход для пациентов с ишемической болезнью и патологией сонной артерии. Однако окончательные выводы можно сделать лишь после проведения широкомасштабных, многоцентровых, рандомизированных клинических исследований.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Patients undergoing cardiac surgery with asymptomatic unilateral carotid stenoses have a low risk of peri-operative stroke / D. Baiou [et al.] // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* – 2009. – Vol. 38, N 5. – P. 556–559. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2009.08.001>
2. Naylor, A. R. A systematic review and metaanalysis of 30-day outcomes following staged carotid artery stenting and coronary bypass / A. R. Naylor, Z. Mehta, P. M. Rothwell // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* – 2009. – Vol. 37, N 4. – P. 379–387. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2008.12.011>
3. Combined carotid endarterectomy and coronary artery bypass grafting in patients with asymptomatic high-grade stenoses: an analysis of 758 procedures / J. Byrne [et al.] // *J. Vasc. Endovasc. Surg.* – 2006. – Vol. 44, N 1. – P. 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2006.03.031>
4. Faggioli, G. L. The role of carotid screening before coronary artery bypass / G. L. Faggioli, G. R. Curl, J. J. Ricotta // *J. Vasc. Endovasc. Surg.* – 1990. – Vol. 12, N 6. – P. 724–731. <https://doi.org/10.1067/mva.1990.24458>
5. Combined myocardial revascularization and carotid endarterectomy: operative and late results in 331 patients / N. R. Hertzner [et al.] // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 1983. – Vol. 85, N 4. – P. 577–589.
6. Huh, J. Treatment of combined coronary and carotid artery disease / J. Huh, M. J. Wall, E. R. Soltero // *Curr. Opin. Cardiol.* – 2003. – Vol. 18, N 6. – P. 447–453. <https://doi.org/10.1097/00001573-200311000-00005>
7. Simultaneous carotid endarterectomy and coronary revascularization / L. Khaitan [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* – 2000. – Vol. 69, N 2. – P. 421–424. [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(99\)01288-6](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(99)01288-6)
8. Multicenter review of preoperative risk factors for stroke after coronary artery bypass grafting / R. John [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* – 2000. – Vol. 69, N 1. – P. 30–36. [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(99\)01309-0](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(99)01309-0)
9. The risk of stroke in patients with asymptomatic carotidstenosis undergoing cardiac surgery: a follow-up study / B. S. Brenner [et al.] // *J. Vasc. Surg.* – 1987. – Vol. 5, N 2. – P. 269–279. [https://doi.org/10.1016/0741-5214\(87\)90135-2](https://doi.org/10.1016/0741-5214(87)90135-2)
10. Concurrent coronary and carotid artery surgery: factors influencing perioperative outcome and long-term results / P. H. Kolh [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2005. – Vol. 27, N 1. – P. 49–56. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehi494>
11. Carotid artery disease and stroke during coronary artery bypass surgery: a critical review of the role of carotid artery disease / A. R. Naylor [et al.] // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* – 2002. – Vol. 23, N 4. – P. 283–294. <https://doi.org/10.1053/ejvs.2002.1609>
12. Will carotid angioplasty become the preferred alternative to staged or synchronous carotid endarterectomy in patients undergoing cardiac surgery? / J. van der Heyden [et al.] // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* – 2008. – Vol. 36, N 4. – P. 379–384. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2008.06.001>
13. Naylor, A. R. Managing patients with symptomatic coronary and carotid artery disease / A. R. Naylor // *Perspect. Vasc. Surg. Endovasc. Ther.* – 2010. – Vol. 22, N 2. – P. 70–76. <https://doi.org/10.1177/1531003510381134>
14. Simultaneous carotid endarterectomy and coronary revascularization is safe using either on-pump or off-pump technique / E. Eren [et al.] // *Intern. Heart J.* – 2005. – Vol. 46, N 5. – P. 783–793. <https://doi.org/10.1536/ihj.46.783>
15. The role of combined carotid endarterectomy and coronary artery bypass grafting in the era of carotid stenting in view of long-term results / E. Levy [et al.] // *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* – 2012. – Vol. 15, N 6. – P. 984–988. <https://doi.org/10.1093/icvts/ivs398>
16. Long-term outcomes of synchronous carotid endarterectomy and coronary artery bypass grafting versus solely carotid endarterectomy / S. Ren [et al.] // *Ann. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2012. – Vol. 18, N 3. – P. 228–235. <https://doi.org/10.5761/atcs.0a.12.01928>

17. Yuan, S.-M. Treatment strategy for combined carotid artery stenosis and coronary artery disease: staged or simultaneous surgical procedure? / S.-M. Yuan, H.-W. Wu, H. Jing // *Tohoku J. Exp. Med.* – 2009. – Vol. 219, N 3. – P. 243–250. <https://doi.org/10.1620/tjem.219.243>
18. Safety and efficiency of concomitant carotid and coronary artery operations / C. W. Akins [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* – 1995. – Vol. 60, N 2. – P. 311–318. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(95\)00397-4](https://doi.org/10.1016/0003-4975(95)00397-4)
19. Improved results of carotid endarterectomy in patients with symptomatic coronary disease: an analysis of 1546 consecutive carotid operations / C. L. Ennix [et al.] // *Stroke.* – 1979. – Vol. 10, N 2. – P. 122–125. <https://doi.org/10.1161/01.str.10.2.122>
20. Staged versus synchronous carotid endarterectomy and coronary artery bypass grafting: analysis of 10-year nationwide outcomes / R. R. Gopaldas [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* – 2011. – Vol. 91, N 5. – P. 1323–1329. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2011.02.053>
21. Adverse cerebral outcomes after coronary bypass surgery. Multicenter study of perioperative ischemia research group and the ischemia research and education foundation investigators / G. W. Roach [et al.] // *N. Engl. J. Medicine.* – 1996. – Vol. 335, N 25. – P. 1857–1863. <https://doi.org/10.1056/NEJM199612193352501>
22. Current concepts in coronary artery surgery: a critical analysis of 1287 patients / G. J. Reul [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* – 1972. – Vol. 14, N 3. – P. 243–259. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(10\)65227-7](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(10)65227-7)
23. Combined carotid and coronary operations: when are they necessary? / E. L. Jones [et al.] // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 1984. – Vol. 87, N 1. – P. 7–16.
24. Long-term results of simultaneous carotid endarterectomy and myocardial revascularization with cardiopulmonary bypass used for both procedures / K. Minami [et al.] // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2000. – Vol. 119, N 4. – P. 764–773. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(00\)70012-2](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(00)70012-2)
25. Early outcome assessment for 2228 consecutive carotid endarterectomy procedures: the Cleveland clinic experience from 1989 to 1995 / N. R. Hertzler [et al.] // *J. Vasc. Surg.* – 1997. – Vol. 26, N 1. – P. 1–10. [https://doi.org/10.1016/s0741-5214\(97\)70139-3](https://doi.org/10.1016/s0741-5214(97)70139-3)
26. Hudorovic, N. Reduction in hospitalisation rates following simultaneous carotid endarterectomy and coronary artery bypass grafting; experience from a single centre / N. Hudorovic // *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* – 2006. – Vol. 5, N 4. – P. 367–372. <https://doi.org/10.1510/icvts.2005.123869>
27. Perioperative morbidity and mortality in combined vs. staged approaches to carotid and coronary revascularization / G. Giangola [et al.] // *Ann. Vasc. Surg.* – 1996. – Vol. 10, N 2. – P. 138–142. <https://doi.org/10.1007/bf02000757>
28. Carotid and aortic screening for coronary artery bypass grafting / I. Fukuda [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* – 2000. – Vol. 70, N 6. – P. 2034–2039. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(00\)02132-9](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(00)02132-9)
29. Akins, C. W. Combined carotid endarterectomy and coronary revascularization operation / C. W. Akins // *Ann. Thorac. Surg.* – 1998. – Vol. 66, N 4. – P. 1483–1484. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(98\)00844-3](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(98)00844-3)
30. Trachiotis, G. D. Management strategy for simultaneous carotid endarterectomy and coronary revascularization / G. D. Trachiotis, A. J. Pfister // *Ann. Thorac. Surg.* – 1997. – Vol. 64, N 4. – P. 1013–1018. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(97\)00795-9](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(97)00795-9)
31. Is an integrated approach warranted for concomitant carotid and coronary disease? / T. J. Takach [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* – 1997. – Vol. 64, N 1. – P. 16–22. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(97\)00493-1](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(97)00493-1)
32. Risk factors for carotid artery disease in patients scheduled for coronary artery bypass grafting / A. Drohomirecka [et al.] // *Kardiologia Polska.* – 2010. – Vol. 68, N 7. – P. 789–794.
33. Cost reduction by combined carotid endarterectomy and coronary artery bypass grafting / P. O Daily [et al.] // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 1996. – Vol. 111, N 6. – P. 1185–1192. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(96\)70220-9](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(96)70220-9)
34. Individualized surgical strategy for the reduction of stroke in patients undergoing CABG / M. Gaudino [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* – 1999. – Vol. 67, N 5. – P. 1246–1253. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(99\)00151-4](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(99)00151-4)
35. Combined carotid endarterectomy and coronary artery bypass: Immediate and long-term results / K. A. Plestis [et al.] // *Ann. Vasc. Surg.* – 1999. – Vol. 13, N 1. – P. 84–92. <https://doi.org/10.1007/s100169900225>
36. Coexistent coronary and cerebrovascular disease: results of simultaneous surgical management in specific patient groups / T. K. Kaul [et al.] // *Cardiovasc. Surg.* – 2000. – Vol. 8, N 5. – P. 355–365. [https://doi.org/10.1016/s0967-2109\(00\)00027-2](https://doi.org/10.1016/s0967-2109(00)00027-2)

References

1. Baiou D., Karageorge A., Spyt T., Naylor A. R. Patients undergoing cardiac surgery with asymptomatic unilateral carotid stenoses have a low risk of peri-operative stroke. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 2009, vol. 38, no. 5, pp. 556–559. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2009.08.001>
2. Naylor A. R., Mehta Z., Rothwell P. M. A systematic review and metaanalysis of 30-day outcomes following staged carotid artery stenting and coronary bypass. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 2009, vol. 37, no. 4, pp. 379–387. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2008.12.011>
3. Byrne J., Darling R. C., Roddy S. P., Mehta M., Paty P. S., Kreienberg P. B., Chang B. B., Ozsvath K. J., Shah D. M. Combined carotid endarterectomy and coronary artery bypass grafting in patients with asymptomatic high-grade stenoses: an analysis of 758 procedures. *Journal of Vascular Surgery*, 2006, vol. 44, no. 1, pp. 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2006.03.031>
4. Faggioli G. L., Curl G. R., Ricotta J. J. The role of carotid screening before coronary artery bypass. *Journal of Vascular Surgery*, 1990, vol. 12, no. 6, pp. 724–731. <https://doi.org/10.1067/mva.1990.24458>

5. Hertzner N. R., Loop F. D., Taylor P. C., Beven E. G. Combined myocardial revascularization and carotid endarterectomy: operative and late results in 331 patients. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 1983, vol. 85, no. 4, pp. 577–589.
6. Huh J., Wall M. J., Soltero E. R. Treatment of combined coronary and carotid artery disease. *Current Opinion in Cardiology*, 2003, vol. 18, no. 6, pp. 447–453. <https://doi.org/10.1097/00001573-200311000-00005>
7. Khaitan L., Sutter F. P., Goldman S. M., Chamogeorgakis T., Wertan M. A., Priest B. P., Whitlark J. Simultaneous carotid endarterectomy and coronary revascularization. *Annals of Thoracic Surgery*, 2000, vol. 69, no. 2, pp. 421–424. [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(99\)01288-6](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(99)01288-6)
8. John R., Choudhri A. F., Weinberg A. D., Ting W., Rose E. A., Smith C. R., Oz M. C. Multicenter review of preoperative risk factors for stroke after coronary artery bypass grafting. *Annals of Thoracic Surgery*, 2000, vol. 69, no. 1, pp. 30–36. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(99\)01309-0](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(99)01309-0)
9. Brener B. S., Brief D. K., Albert J., Goldenkraz R. J., Parsonnet V. The risk of stroke in patients with asymptomatic carotid stenosis undergoing cardiac surgery: a follow-up study. *Journal of Vascular Surgery*, 1987, vol. 5, no. 2, pp. 269–279. [https://doi.org/10.1016/0741-5214\(87\)90135-2](https://doi.org/10.1016/0741-5214(87)90135-2)
10. Kolh P. H., Comte L., Tchana-Sato V., Honore C., Kerzmann A., Mauer M., Limet R. Concurrent coronary and carotid artery surgery: factors influencing perioperative outcome and long-term results. *European Heart Journal*, 2005, vol. 27, no. 1, pp. 49–56. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehi494>
11. Naylor A. R., Mehta Z., Rothwell P. M., Bell P. R. F. Carotid artery disease and stroke during coronary artery bypass surgery: a critical review of the role of carotid artery disease. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 2002, vol. 23, no. 4, pp. 283–294. <https://doi.org/10.1053/ejvs.2002.1609>
12. Heyden van der J., Lans H., Werkum van J., Schepens M., Ackerstaff R., Suttorp M. Will carotid angioplasty become the preferred alternative to staged or synchronous carotid endarterectomy in patients undergoing cardiac surgery? *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 2008, vol. 36, no. 4, pp. 379–384. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2008.06.001>
13. Naylor A. R. Managing patients with symptomatic coronary and carotid artery disease. *Perspectives in Vascular Surgery and Endovascular Therapy*, 2010, vol. 22, no. 2, pp. 70–76. <https://doi.org/10.1177/1531003510381134>
14. Eren E., Balkanay M., Toker M. E., Tunçer A., Anasiz H., Güler M., Dağlar B., Ipek G., Akinci E., Alp M., Yakut C. Simultaneous carotid endarterectomy and coronary revascularization is safe using either on-pump or off-pump technique. *International Heart Journal*, 2005, vol. 46, no. 5, pp. 783–793. <https://doi.org/10.1536/ihj.46.783>
15. Levy E., Yakubovitch D., Rudis E., Anner H., Landsberg G., Berlatzky Y., Elami A. The role of combined carotid endarterectomy and coronary artery bypass grafting in the era of carotid stenting in view of long-term results. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*, 2012, vol. 15, no. 6, pp. 984–988. <https://doi.org/10.1093/icvts/ivs398>
16. Ren S., Liu P., Ma G., Wang F., Qian S., Fan X. Long-term outcomes of synchronous carotid endarterectomy and coronary artery bypass grafting versus solely carotid endarterectomy. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2012, vol. 18, no. 3, pp. 228–235. <https://doi.org/10.5761/atcs.0a.12.01928>
17. Yuan S.-M., Wu H.-W., Jing H. Treatment strategy for combined carotid artery stenosis and coronary artery disease: staged or simultaneous surgical procedure? *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 2009, vol. 219, no. 3, pp. 243–250. <https://doi.org/10.1620/tjem.219.243>
18. Akins C. W., Moncure A. C., Daggett W. M., Cambria R. P., Hilgenberg A. D., Torchiana D. F., Vlahakes G. J. Safety and efficiency of concomitant carotid and coronary artery operations. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 1995, vol. 60, no. 2, pp. 311–318. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(95\)00397-4](https://doi.org/10.1016/0003-4975(95)00397-4)
19. Ennix C. L., Lawrie G. M., Morris G. C., Crawford E. S., Howell J. F., Reardon M. J., Weatherford S. C. Improved results of carotid endarterectomy in patients with symptomatic coronary disease: an analysis of 1546 consecutive carotid operations. *Stroke*, 1979, vol. 10, no. 2, pp. 122–125. <https://doi.org/10.1161/01.str.10.2.122>
20. Gopaldas R. R., Chu D., Dao T. K., Huh J., LeMaire S. A., Lin P., Coselli J. S., Bakaen F. G. Staged versus synchronous carotid endarterectomy and coronary artery bypass grafting: analysis of 10-year nationwide outcomes. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2011, vol. 91, no. 5, pp. 1323–1329. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2011.02.053>
21. Roach G. W., Kanchuger M., Mangano C. M., Newman M., Nussmeier N., Wolman R., Aggarwal A., Marschall K., Graham S., Ley C. Adverse cerebral outcomes after coronary bypass surgery. Multicenter study of perioperative ischemia research group and the ischemia research and education foundation investigators. *New England Journal of Medicine*, 1996, vol. 335, no. 25, pp. 1857–1863. <https://doi.org/10.1056/NEJM199612193352501>
22. Reul G. J., Morris G. C., Howell J. F., Crawford E. S., Stelter W. Y. Current concepts in coronary artery surgery: a critical analysis of 1287 patients. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 1972, vol. 14, no. 3, pp. 243–259. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(10\)65227-7](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(10)65227-7)
23. Jones E. L., Craver J. M., Michalik R. A., Murphy D. A., Guyton R. A., Bone D. K., Hatcher C. R., Reichwald N. A. Combined carotid and coronary operations: when are they necessary. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 1984, vol. 87, no. 1, pp. 7–16.
24. Minami K., Fukahara K., Boethig D., Bairaktaris A., Fritzsche D., Koerfer R. Long-term results of simultaneous carotid endarterectomy and myocardial revascularization with cardiopulmonary bypass used for both procedures. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2000, vol. 119, no. 4, pp. 764–773. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(00\)70012-2](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(00)70012-2)
25. Hertzner N. R., O'Hara P. J., Mascha E. J., Krajewski L. P., Sullivan T. M., Beven E. G. Early outcome assessment for 2228 consecutive carotid endarterectomy procedures: the Cleveland clinic experience from 1989 to 1995. *Journal of Vascular Surgery*, 1997, vol. 26, no. 1, pp. 1–10. [https://doi.org/10.1016/s0741-5214\(97\)70139-3](https://doi.org/10.1016/s0741-5214(97)70139-3)

26. Hudorovic N. Reduction in hospitalisation rates following simultaneous carotidendarterectomy and coronary artery bypass grafting; experience from a single centre. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*, 2006, vol. 5, no. 4, pp. 367–372. <https://doi.org/10.1510/icvts.2005.123869>

27. Giangola G., Migaly J., Riles T. S., Lamparello P. J., Adelman M. A., Grossi E., Colvin S. B., Pasternak P. F., Galloway A., Culliford A. T., Esposito R., Ribacove G., Crawford B. K., Glassman L., Baumann F. G., Spencer F. C. Perioperative morbidity and mortality in combined vs. staged approaches to carotid and coronary revascularization. *Annals of Vascular Surgery*, 1996, vol. 10, no. 2, pp. 138–142. <https://doi.org/10.1007/bf02000757>

28. Fukuda I., Gomi S., Watanabe K., Seita J. Carotid and aortic screening for coronary artery bypass grafting. *Annals of Thoracic Surgery*, 2000, vol. 70, no. 6, pp. 2034–2039. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(00\)02132-9](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(00)02132-9)

29. Akins C. W. Combined carotid endarterectomy and coronary revascularization operation. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 1998, vol. 66, no. 4, pp. 1483–1484. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(98\)00844-3](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(98)00844-3)

30. Trachiotis G. D., Pfister A. J. Management strategy for simultaneous carotid endarterectomy and coronary revascularization. *Annals of Thoracic Surgery*, 1997, vol. 64, no. 4, pp. 1013–1018. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(97\)00795-9](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(97)00795-9)

31. Takach T. J., Reul G. J., Cooley D. A., Duncan J. M., Ott D. A., Livesay J. J., Hallman G. L., Frazier O. H. Is an integrated approach warranted for concomitant carotid and coronary disease? *Annals of Thoracic Surgery*, 1997, vol. 64, no. 1, pp. 16–22. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(97\)00493-1](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(97)00493-1)

32. Drohomirecka A., Kołtowski L., Kwinecki P., Wronecki K., Cichoń R. Risk factors for carotid artery disease in patients scheduled for coronary artery bypass grafting. *Kardiologia Polska*, 2010, vol. 68, no. 7, pp. 789–794.

33. Daily P. O., Freeman R. K., Dembitsky W. P., Adamson R. M., Moreno-Cabral M. J., Marcus S., Lamphere J. A. Cost reduction by combined carotid endarterectomy and coronary artery bypass grafting. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 1996, vol. 111, no. 6, pp. 1185–1192. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(96\)70220-9](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(96)70220-9)

34. Gaudino M., Glieca F., Alessandini F., Cellini C., Luciani N., Praqliola C., Schiavello R., Possati G. Individualized surgical strategy for the reduction of stroke in patients undergoing CABG. *Annals of Thoracic Surgery*, 1999, vol. 67, no. 5, pp. 1246–1253. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(99\)00151-4](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(99)00151-4)

35. Plestis K. A., Ke S., Jiang Z. D., Howell J. F. Combined carotid endarterectomy and coronary artery bypass: immediate and long-term results. *Annals of Vascular Surgery*, 1999, vol. 13, no. 1, pp. 84–92. <https://doi.org/10.1007/s100169900225>

36. Kaul T. K., Fields B. L., Riggins L. S., Wyatt D. A., Jones C. R. Coexistent coronary and cerebrovascular disease: results of simultaneous surgical management in specific patient groups. *Cardiovascular Surgery*, 2000, vol. 8, no. 5, pp. 355–365. [https://doi.org/10.1016/s0967-2109\(00\)00027-2](https://doi.org/10.1016/s0967-2109(00)00027-2)

Информация об авторе

Янушко Вячеслав Алексеевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр «Кардиология» (ул. Р. Люксембург, 110Б, 220036, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: yanushkova@mail.ru

Information about the author

Viacheslav A. Yanushko – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Centre “Cardiology” (R. Luxembourg Str., 110B, 220036, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yanushkova@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

АГЛЯДЫ
REVIEWS

УДК 611.018.5+612.017.1
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-363-382>

Поступила в редакцию 03.05.2018
Received 03.05.2018

Л. П. Титов

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

**МОНОЦИТЫ, МАКРОФАГИ, ДЕНДРИТНЫЕ И МИЕЛОИДНЫЕ СУПРЕССОРНЫЕ
КЛЕТКИ: ГЕНЕЗ, КЛАССИФИКАЦИЯ, ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА**

Аннотация. В статье представлены современные данные о важнейшем компоненте естественного иммунитета человека – клетках системы мононуклеарных фагоцитов. Рассмотрены такие вопросы, как происхождение, репертуар экспрессируемых дифференцировочных маркеров, классификация моноцитов (классические, промежуточные, неклассические), макрофагов (провоспалительные и противовоспалительные) и дендритных клеток (миелоидные, плазмацитоидные), их иммунобиологические функции, роль в гуморальном и Т-клеточном иммунном ответе. Анализируется возможность получения клеточных иммунобиологических продуктов (адьювантных/стимуляторных и толерогенных) для иммунотерапии онкологических, инфекционных и аутоиммунных заболеваний.

Ключевые слова: моноциты, макрофаги, миелоидные и плазмацитоидные дендритные клетки, воспаление, иммунный ответ

Для цитирования: Титов, Л. П. Моноциты, макрофаги и дендритные клетки: генез, классификация, иммунобиологические свойства / Л. П. Титов // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 363–382. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-363-382>

L. P. Titov

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

**MONOCYTES, MACROPHAGES, DENDRITIC AND MYELOID SUPPRESSOR CELLS:
GENESIS, CLASSIFICATION, IMMUNOBIOLOGICAL PROPERTIES**

Abstract. The article presents the modern data on the most important component of natural immunity – cells of the mononuclear phagocyte system. The questions of origin, the spectrum of expressed markers of differentiation, the classification of monocytes (classical, intermediate, non-classical), macrophages (pro-inflammatory and anti-inflammatory) and dendritic cells (myeloid, plasmacytoid), their immunobiological functions, their role in humoral and T-cell immune responses, anergy and tolerance are considered. The possibility of obtaining cellular immunobiological products (adjuvant and tolerogenic) for immunotherapy of oncological, infectious and autoimmune diseases on their basis is analyzed.

Keywords: monocytes, macrophages, myeloid and plasmacytoid dendritic cells, inflammation, immune response

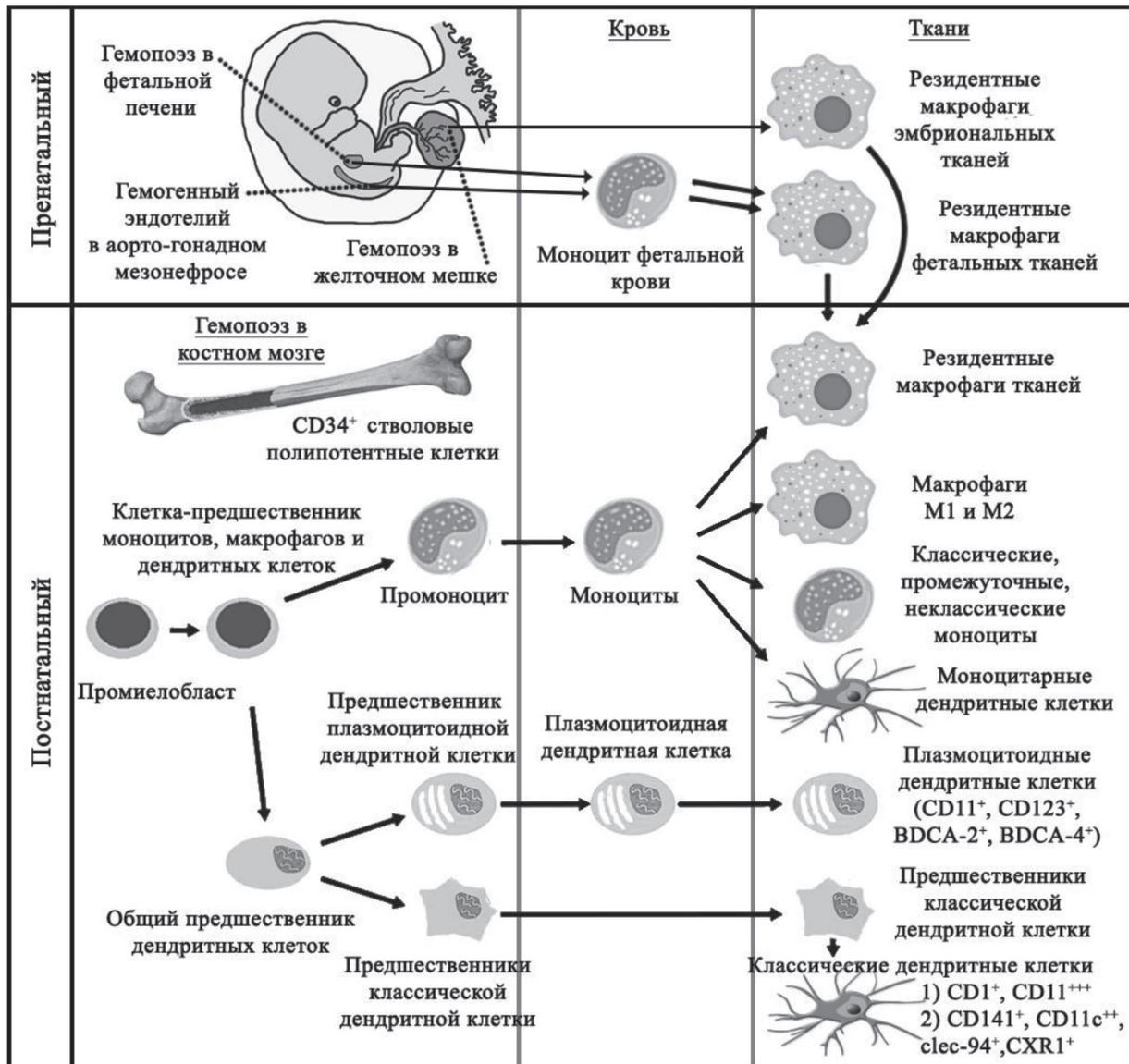
For citation: Titov L. P. Monocytes, macrophages, dendritic and myeloid suppressor cells: genesis, classification, immunobiological properties. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 363–382 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-363-382>

Введение. Успешное завершение международного проекта по секвенированию и аннотации генома человека в конце XX в. ускорило развитие фундаментальной и прикладной иммунологии, становление нового направления – иммуномики [1]. Иммунная система человека, подвергаясь атакам микроорганизмов (вирусов, бактерий, грибов и простейших), воздействию химических и физических факторов внешней среды, постоянно эволюционирует, что реализуется посредством механизмов преобразования генома (генов) человека (несинонимичных и синонимичных замен

нуклеотидов, вставок, делеций, дупликаций, реаранжировок и гипермутаций) с целью обеспечения быстрого естественного и адекватного по силе специфического реагирования на генетически чужеродные субстанции, представляющие угрозу состоянию здоровья [2].

Разнообразие и эффективность специфических иммунологических реакций организма человека определяется спектром поверхностных антигенспецифических рецепторов Т- и В-лимфоцитов и селекцией их клонов в ходе иммунного ответа на чужеродные и аутоантигены [3]. Вместе с тем активация лимфоцитов и развитие иммунного ответа невозможны без кооперативного участия дополнительных клеток нелимфоидной природы, обладающих адгезией, фагоцитозом, переработкой и презентацией антигенов [4, 5]. Впервые эти клетки были идентифицированы И. Мечниковым как микро- и макрофаги [6]. R. van Furth [7, 8] обосновал связь моноцитов крови с макрофагами и сформировал представление о системе мононуклеарных фагоцитов (СМФ). Позднее R. Steinmann и Z. Cohn [9] обнаружили новый тип клеток своеобразной морфологии, покрытых ворсинками наподобие вуали. Из-за наличия множественных выростов цитоплазмы (дендронов) они были названы дендритными клетками (ДК). ДК гетерогенны, различаются онтогенезом, локализацией, спектром экспрессируемых поверхностных, секретлируемых молекул, функциональным потенциалом [10]. В настоящее время под термином «система мононуклеарных фагоцитов» понимают совокупность клеток миелоидного происхождения, включающую костномозговые предшественники, циркулирующие моноциты, резидентные макрофаги и ДК [11] (см. рисунок). Физиологическая сеть клеток СМФ периферической крови и органов включает совокупность субпопуляций с уникальным фенотипом, профилями транскрипции и соответствующими функциями. Клетки мононуклеарных фагоцитов обладают способностью захватывать, поглощать, процессировать и транспортировать чужеродные материалы (антигены) из крови, периферических тканей и слизистой кишечника в лимфоидные органы с последующей презентацией клоном наивных Т-клеток. Развитие каждого типа этих клеток находится под строгим контролем транскрипционных факторов, обеспечивающих прохождение критических этапов дифференцировки. На основе пластичности этих клеток, способности процессировать и презентировать иммуногенные пептиды субпопуляциям Т-лимфоцитов разрабатываются инновационные персонализированные вакцины для лечения рака, хронических инфекций и аутоиммунных заболеваний [12]. Вместе с тем уровень знаний о биологии клеток СМФ, их роли в иммунном ответе, анергии, толерантности, реакциях гиперчувствительности и аутоиммунитета (схема генеза клеток СМФ представлена на рисунке) еще недостаточен, что указывает на необходимость более пристального внимания исследователей к данной проблеме и углубленных исследований в области иммунофизиологии и иммунопатологии [13]. Для идентификации клеток СМФ разработана панель моноклональных антител, позволяющая определять до 10 субпопуляций моноцитов, макрофагов и ДК [14].

Моноциты (англ. *monocytes*). Моноциты – популяция самых крупных (12–20 мкм) лейкоцитов периферической крови с компактным овоидной и/или бобовидной/почкоподобной формы ядром, относительно широкой каймой цитоплазмы и цитоплазматическими везикулами. Они обладают фагоцитозом, процессингом антигенов, антигенпрезентацией, секрецией цитокинов, регуляторной и эффекторной функциями [15]. Клетки моноцитарной линии образуются из костномозговых предшественников: монобластов и промоноцитов. Направленная дифференцировка монобластов в промоноциты и моноциты находится под влиянием колониестимулирующего фактора для гранулоцитов и макрофагов (КСФ-ГМ), колониестимулирующего фактора для моноцитов (КСФ-М), фактора стволовых клеток, рецептора тирозин-киназы 3, транскрипционного фактора PU.1 и цитокинов – ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-34 [16]. Циркулирующие в крови моноциты экспрессируют комплементарные КСФ, цитокинам и хемокинам рецепторы. Зрелые моноциты посредством рецепторов эффективно связывают ростовые факторы и цитокины, что изменяет их функциональную активность и содержание в крови. Снижение продукции КСФ-М угнетает пролиферативные свойства моноцитов, а повышение концентрации усиливает пролиферацию резидентных макрофагов и рекрутирование моноцитов из костного мозга по градиенту концентрации секретлируемого макрофагами хемокина CCL2. КСФ-ГМ участвует в дифференцировке мононуклеарных фагоцитов, особенно в легочной ткани, поддерживает экспансию и дифференциацию моноцитов



Онтогенез и дифференцировка клеток системы мононуклеарных фагоцитов в пре- и постнатальном периоде
 Ontogeny and differentiation of cells of the mononuclear phagocyte system in the pre- and postnatal period

in vitro, что используют при получении моноцитарных ДК (моДК) [17]. Активная стимуляция кроветворения и продукции моноцитов достигается также воздействием ИЛ-1 и ФНО на клетки микроокружения и повышением ими продукции КСФ-ГМ, КСФ-М и ИЛ-6. Ингибиторами кроветворения являются ТФР-бета, действующий на широкий спектр клеток, а также ФНО- α и ИЛ-4, влияющие на уровне поздних предшественников миелопоэза. В клинической практике для стимуляции кроветворения при постцитостатической цитопении, трансплантации костного мозга, лечении нейтропении, апластической анемии и миелодисплазии, острых лейкозах, анемии на фоне уремии и злокачественных опухолях применяются рекомбинантные КСФ-ГМ, КСФ-Г и эритропоэтин [18]. Относительное содержание моноцитов в периферической крови составляет 2–9 % от всех лейкоцитов, а абсолютное варьируется от $(0,2–0,8) \cdot 10^9/\text{л}$ у взрослых до $1,8 \cdot 10^9/\text{л}$ у новорожденных. Считается, что 50 % от общего содержания моноцитов в организме локализуется в селезенке и используется в качестве резерва. В периферической крови моноциты циркулируют в течение нескольких дней (период полужизни 71 ч), после чего мигрируют в ткани, восполняя популяцию тканевых макрофагов. Моноциты, не рекрутированные в ткани, погибают в результате апоптоза и удаляются из организма. Продолжительность жизни моноцитов, рекрутированных

в очаг воспаления, вследствие включения программы ингибции апоптоза пролонгируется. При ряде физиологических и патологических состояний, а также под воздействием лекарственных препаратов содержание моноцитов в крови изменяется [15]. Идентификацию клеток моноцитарной линии осуществляют с помощью проточной цитометрии с применением линиеспецифичных моноклональных антител к поверхностным маркерам. Только несколько маркеров, выявляемых моноклональными антителами, относятся к моноцитспецифичным, тогда как другие специфичны для определенной стадии жизненного цикла [19]. Для более точной их идентификации используют комбинацию нескольких специфичных маркеров. Большинство (>95 %) циркулирующих моноцитов экспрессируют CD11c⁺ и отличаются от ДК дополнительной экспрессией CD14⁺. Зрелые циркулирующие моноциты характеризуются экспрессией CD14 (ко-рецептор для липополисахарида (ЛПС) бактерий), CD13 (аминопептидаза-N), CD16 (Fc-gammaIII), CD33 (сиалоадгезин), CD11b (интегрин-альфа), CD18 (интегрин-бета), CD4^{dim} (ко-рецептор HLAII класса) и CD64 (FcR1-рецептор). Анализ экспрессии поверхностных маркеров моноцитов дает возможность получить информацию об адгезивной активности [CD54 (ICAM-1), CD49 (VLA-1a)], состоянии активации (CD68, CD69 и HLA-DR), наличии аксессуарных молекул активации Т-лимфоцитов (CD70, CD80, CD86) и хемокиновых рецепторов (CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5). Интенсивность экспрессии рецепторного аппарата моноцитов варьируется в зависимости от степени зрелости и функциональной активности клеток и достигает 20–30 тыс. мол/кл. Несмотря на высокий уровень экспрессии молекул II класса и способность презентировать иммуногенные пептиды Т-клеткам, в целом они являются слабыми стимуляторами иммунного ответа [19], но продукция цитокинов и кооперация с ДК в переработке антигенов позволяет им поддерживать адаптивный иммунный ответ. Активированные моноциты обладают киллерной активностью, опосредствованной комплементзависимой цитотоксичностью.

В соответствии с новой классификацией международного общества иммунологов моноциты человека на основе различий в экспрессии молекул CD14, CD16 и хемокиновых рецепторов CCR2 и CX3CR1 подразделяются на три субпопуляции [19, 20].

Классические моноциты (англ. *classical monocytes*). Составляют менее 10 % от всех лейкоцитов и около 85 % от всех моноцитов, активно мигрируют в места воспаления, экспрессируют ряд основных (CD14⁺⁺, CD16⁻CD64⁺, CCR2⁺, CX3CR1⁻) и дополнительных (CD62L⁺, HLADR⁺, CD163⁺) маркеров. Они продуцируют как про-, так и противовоспалительные медиаторы, и их основной функцией являются фагоцитоз и противомикробная активность. При стимуляции ЛПС они в значительных количествах синтезируют ИЛ-10 и слабо продуцируют ФНО-α. Профилирование генов свидетельствует об экспрессии ими молекул, участвующих в ангиогенезе, заживлении ран и свертывании крови [21].

Промежуточные моноциты (англ. *intermediate monocytes*). Составляют около 5 % от всех моноцитов, экспонируют на мембране основные (CD14⁺⁺, CD16⁺, CCR2^{mid}, CX3CR1^{high}, CCR5⁺) и промежуточные (CD62L⁺, CD64⁻, HLADR⁺⁺, CD163⁺) молекулярные маркеры, обладают фагоцитарной активностью, процессированием и презентацией антигенов, участвуют в воспалении. В ответ на стимуляцию ЛПС слабо продуцируют пероксидазу и в значительных количествах – ИЛ-1b и ФНО-α. Для них характерна селективная экспрессия CCR5 рецептора (ко-рецептора ВИЧ), а также ассоциация с кардиоваскулярной патологией [22]. При инициации воспалительной реакции субпопуляции классических и промежуточных моноцитов мигрируют в ткани, инфильтрируют их, принимают участие в репаративных процессах. Миграцию моноцитов в ткани стимулируют хемоаттрактантный белок моноцитов MCP-1 и взаимодействие рецепторов с лигандами CCR2/CCL2 и/или CCR5/CCL5. Моноциты данного фенотипа экспрессируют высокий уровень хемокиновых рецепторов CCR2, CXCR4 и низкий уровень CX3CR1, продуцируют про- и противовоспалительные цитокины (ИЛ-10), определяющие интенсивность локального и системного воспаления [23].

Неклассические моноциты (англ. *non-classical monocytes*). Составляют примерно 10 % от всех моноцитов, экспрессируют основной (CD14⁺ (CD14^{dim}), CD16⁺⁺, CCR2, CX3CR1⁺) и дополнительный (CD62L⁻, CD64⁻, HLADR⁺⁺, CD163⁻) спектр молекул, обеспечивают локальное патрулирование тканей, включая стенки сосудов, мигрируют в невоспаленные ткани в результате взаимодействия мо-

лекул CX3CR1/CCL3 и воздействия лейкоцитарного антигена семейства интегринов – LFA-1. В ответ на взаимодействие с ДНК и РНК они продуцируют ИЛ-1b, ФНО- α , интерферон-альфа. Повышенное содержание данной субпопуляции ассоциируется с аутоиммунными заболеваниями. Патрулирующие моноциты экспрессируют высокий уровень рецепторов TLR-7, CX3CR1, молекул II класса и низкий уровень CCR2, распознают микробные паттерны, обладают противовоспалительным эффектом, дифференцируются в резидентные тканевые макрофаги (РТМ). Они активно реагируют на инфекцию, эффективны в противовирусной защите организма, восстанавливают структуру тканей [24]. В норме имеет место баланс субпопуляций моноцитов и ДК в периферической крови, который может нарушаться при различных заболеваниях.

Моноцитоз (англ. *monocytosis*). Повышенное относительное (до 10–11 %) и абсолютное (> 800 кл/мкл) содержание моноцитов в крови рассматривается как моноцитоз. Наблюдается это состояние при бактериальных (сифилис, туберкулез, бруцеллез, бактериальный эндокардит) и вирусных (эпидпаротит, корь, краснуха, ВИЧ) инфекциях, паразитарных (малярия, трипаносомоз, лейшманиоз) инвазиях, а также при аутоиммунных (ревматоидный артрит, системная красная волчанка, хронический язвенный колит, саркоидоз, лимфогранулематоз), онкологических (рак яичников, молочной железы, толстой кишки, моноцитарный лейкоз) и кардиоваскулярных (инфаркт миокарда, артериит, аневризма аорты) заболеваниях [25]. При воспалении под воздействием фактора, стимулирующего моноцитопоз, количество моноцитов в крови увеличивается в несколько раз, а период их полужизни сокращается до 12 ч. Рекрутированные из костного мозга клетки мигрируют в участки воспаления в тканях. В результате активации и последующей миграции в ткани моноциты достигают конечной стадии своей дифференциации – тканевых макрофагов. Циркулирующие в периферической крови непродолжительное время моноциты являются предшественниками РТМ и более специализированных клеток, таких как остеокласты и ДК. При онкологических заболеваниях моноциты рекрутируются из крови в ткань опухоли и могут ингибировать механизмы Т-клеточного противоопухолевого иммунитета [26]. Моноцитоз ассоциируется также с повышенным риском развития атеросклероза. Локальная продукция хемокинов CCL2 и CCL5 стимулирует миграцию моноцитов в стенку артерий, аккумуляцию их субэндотелиально и дифференциацию в макрофаги. Последние участвуют в образовании и повреждении атеросклеротических бляшек, что является важнейшим звеном прогрессирования атеросклероза и может привести к сужению и блокаде сосудов, инфаркту миокарда, инсульту или сердечной недостаточности [21]. На поздних стадиях миокардита моноциты способствуют заживлению участка повреждения. Выявление повышенного количественного содержания и дисбаланса субпопуляций моноцитов в периферической крови у пациентов с кардиоваскулярной патологией позволит более эффективно формировать группы риска и применять оптимальные методы лечения и профилактики.

Моноцитопения (англ. *monocytopenia*). Стойкое снижение моноцитов в крови до менее 3 % (<200 кл/мкл) рассматривается как моноцитопения. Молекулярные механизмы генеза ослабленной продукции моноцитов изучены недостаточно. Моноцитопенией проявляются начальные стадии ряда инфекций (хронической лимфоцитарной лейкемии, тяжелых форм туберкулеза, СПИДа), апластической анемии, лейкозов (волосато-клеточного), моно-МАК-синдрома (моноцитопении с микобактериум авиум комплексным синдромом), системной красной волчанке, ревматоидном артрите, дефиците витамина В12. Для лиц с моноцитопенией характерен низкий риск развития кардиоваскулярных заболеваний, но повышенная восприимчивость к инфекциям, вызываемым микобактериями, грибами, папилломавирусами, а также к онкологическим заболеваниям [25].

Регуляция содержания моноцитов в крови. Регулярные физические упражнения в течение 6 недель приводят к снижению содержания моноцитов и триглицеридов в крови, повышают чувствительность клеток к инсулину, снижают индекс массы тела. Воздействие теплом и холодом повышает уровень моноцитов в крови. Гормон роста и лептин способствуют увеличению количества лейкоцитов, включая и моноциты. Витамин Д3 стимулирует уровень моноцитов, а витамин С, ингибируя программированную гибель клеток, продлевает их жизнь. Хронически употребляющие алкоголь лица имеют повышенную проницаемость слизистой кишечника, что облегчает поступление ЛПС бактерий в кровь, повышает содержание моноцитов, усиливает продукцию ФНО- α и инициирует воспаление [25].

Кортикостероиды, интерферон-альфа, ФНО- α и радиотерапия снижают содержание моноцитов в крови, а высокие дозы вызывают моноцитопению. Эстроген и прогестерон также снижают уровень моноцитов в крови, что объясняет угнетение Т-клеточного иммунитета при беременности. Инфликсимаб ускоряет гибель моноцитов, способствует угасанию хронического воспаления при болезни Крона и язвенном колите. Низкий уровень моноцитов в крови может быть обусловлен как снижением скорости их образования в костном мозге из-за недостаточности продукции ростовых и транскрипционных факторов, так и замедлением их миграции из костного мозга в кровь [25]. Между содержанием моноцитов в крови и гемолитической активностью классического пути системы комплемента имеется положительная взаимосвязь [27]. Отношение содержания моноцитов в 1 мкл к активности классического пути комплемента в 1 мл сыворотки крови – моноцит-комплементарный индекс (МКИ) [28] ассоциируется с клиническими формами острых и хронических инфекционных заболеваний, коррелирует с содержанием Т-клеток и размером кожных тестов гиперчувствительности замедленного типа [29]. Тяжелые и осложненные формы дифтерии характеризуются достоверно сниженным значением МКИ ($p < 0,05$) [30].

Макрофаги (англ. *macrophages*). Макрофаги являются активными участниками хронического воспаления тканей, а моноциты рекрутируются из костного мозга и периферической крови в очаги воспаления, включая стенку сосудов, для замещения РТМ [8]. Они имеют диаметр около 21 мкм. В противоположность моноцитам макрофаги являются функционально более зрелыми клетками с длительным периодом полужизни, способны определять форму и размеры возможных мишеней, кооперируются в осуществлении функций [31], проявляют высокую протеолитическую и слабую антигенпрезентирующую активность, играют первостепенную роль в поддержании тканевого гомеостаза, разрушая и удаляя клеточный дебрис, патрулируют ткани, перемещаясь посредством амебоидных движений. Вместе с тем они могут быть инициаторами воспаления, продуцируя хемокины CCL2, CXCL1, фактор, ингибирующий макрофаги (MIF), и цитокины ИЛ-6 и ФНО- α , привлекающие в очаг воспаления другие типы клеток и активирующие их [32]. Макрофаги берут свое начало от миелоидных фетальных предшественников и моноцитов (см. рисунок), но могут локально самообновляться путем пролиферации [32–36]. Большинство тканей организма характеризуется наличием РТМ, а разнообразие локального тканевого микроокружения определяет их фенотипическую и функциональную гетерогенность. Анализ профилей экспрессии генов макрофагов из разных тканей выявил всего два общих для всех субпопуляций гена, кодирующих CD64 и MerTK [37]. При ряде первичных иммунодефицитных состояний отмечаются моноцитопения и отсутствие циркулирующих и тканевых ДК при относительно сохраненной функции макрофагов [36, 38]. Активированные макрофаги имеют период полужизни от нескольких дней до нескольких недель.

Четкие молекулярные маркеры, дифференцирующие ТРМ от инфильтрирующих, отсутствуют. При артериитах резидентные макрофаги плотно инфильтрируют ткань стенки артерий, располагаясь преимущественно в адвентиции [39]. Локальное восстановление популяции макрофагов артерий зависит от взаимодействия CX3CRI-рецептора с CX3CLI-лигандом, экспрессируемым мезенхимальными стволовыми клетками (МСК). В дополнение к экспрессии основных маркеров макрофагов, включая CD64, MerTK, CD11b, макрофаги артерий экспрессируют эндотелиальный рецептор гиалуроновой кислоты лимфатических сосудов (Lyve-1) [39].

Mer⁺TK⁺CD64⁺ макрофаги выполняют важные функции в воспалении, гомеостазе и репарации тканей. Вследствие их различной функциональной роли и морфологии они формируют ряд фенотипов (субпопуляций), включающих классические (провоспалительные, или M1, макрофаги) и альтернативные (противовоспалительные, ранозаживляющие, или M2, макрофаги) (см. таблицу). В свою очередь среди M2 макрофагов выявляют еще три субпопуляции – M2a, M2b и M2c. В процессе стимуляции M1 макрофаги продуцируют цитокины воспаления и ростовые факторы VEGF и FGF, регулирующие функцию Т-лимфоцитов. Кроме того, CD4⁺Th1 типа локально продуцируют интерферон-гамма, поляризуя наивные моноциты в макрофаги M1 фенотипа [40].

Провоспалительные, или M1, макрофаги (англ. *proinflammatory or M1 macrophages*) еще называют классически активированными макрофагами (КАМ). Наивные макрофаги поляризуются в M1 фенотип обработкой клеток *in vitro* интерфероном-гамма, клеточными стенками бактерий,

воздействием ЛПС и/или в комбинации с ФНО- α [41]. М1 макрофаги продуцируют высокий уровень ИЛ-12, оксида азота (NO), низкий уровень ИЛ-10, активируют CD4⁺ Th1 типа [42]. Поляризация макрофагов в М1 и М2 фенотип изменяет спектр экспрессируемых маркеров (CD68⁺/CD80⁺ и CD68⁻/CD163⁺ соответственно), цитоскелет и морфологию клеток [43]. В зависимости от меняющихся условий микроокружения субпопуляция М1 макрофагов может трансформироваться в субпопуляцию М2 и наоборот. В свою очередь, цитокины, продуцируемые М1 макрофагами, усиливают элиминацию патогенных микробов и удаление фрагментов некротизированных клеток. Чрезмерная активация, равно как и угнетение ответа М1 макрофагов, регулируется CD4⁺Th17⁺ клетками, повышенная активность которых ассоциируется с повреждением тканей, а недостаточность функции – с развитием аутоиммунных заболеваний [44].

Противовоспалительные, или М2, макрофаги (англ. *anti-inflammatory or M2 macrophages*) фенотипа хорошо известны как альтернативно активированные макрофаги (ААМ) вследствие различий активационных сигналов в сравнении с М1 макрофагами. Они активируются при обработке клетками грибов, простейших, иммунными комплексами, фрагментами белков комплемента, апоптотическими клетками, ростовыми факторами и цитокинами (КСФ-М, ИЛ-4, ИЛ-13, ИЛ-10, ФНО- β), стимулируют CD4⁺ Th2 типа [45]. М2 макрофаги обладают высокой фагоцитарной активностью, продуцируют компоненты внеклеточного матрикса, ангиогенные и хемотаксические факторы, способствуют заживлению тканей. Эти клетки участвуют в аллергическом воспалении, стимулируют рост опухолевых клеток, могут быть эндогенным резервуаром различных патогенов. Они подразделяются на М2а, М2б и М2с субпопуляции на основе активационных сигналов, молекулярных маркеров и функционального разнообразия (см. таблицу). Наивные макрофаги при обработке *in vitro* ИЛ-4 или ИЛ-13 приобретают М2а фенотип, а под воздействием иммунных комплексов в комбинации с агонистами толл-рецепторов и ИЛ-1а трансформируются в фенотип М2б. Добавление к культуре клеток макрофагов ИЛ-10 формирует фенотип макрофагов М2с. М2а макрофаги под влиянием ИЛ-4/ИЛ13 повышают продукцию аргиназы 1, коллаген- и фибробласт-стимулирующих факторов, образуют внеклеточный матрикс и стимулируют заживление ран [42]. М2б и М2с макрофаги угнетают воспалительную реакцию путем секреции ИЛ-10, проявляя таким образом толерогенные свойства. Выделяют еще М2d категорию макрофагов, активируемую ИЛ-6 и аденозином [46]. Субпопуляции макрофагов принимают участие в развитии атеросклероза. М1 инициируют воспаление, а М2 удаляют из сосудов холестерол и формируют атеросклеротические бляшки. Иммунобиологическая характеристика субпопуляций макрофагов представлена в таблице.

Иммунобиологическая характеристика субпопуляций макрофагов
Immunobiological characteristics of macrophage subpopulations

| Субпопуляция | Агенты поляризации | Специфичные маркеры | Экспрессия генов |
|---|---|--|--|
| I. Классически активированные макрофаги (КАМ или М1) | | | |
| М1 | ИФН- γ , ФНО- α , ЛПС, ГМ-КСФ | CCR7 ⁺ , CD80 ⁺ , HLAII ⁺ , CD68 ⁺ | ИЛ-1-бета, ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-23, iNOS, ИНФ- γ , CXCL10, CXCL11, CCL1, CCL5, VEGF, FGF |
| II. Альтернативно активированные макрофаги (ААМ или М2) | | | |
| М2а | ИЛ-4, ИЛ-13 | CD206 ⁺ , MerTK ⁺ , CD64 ⁺ | CCL17, CCL18, CCL22, PDGF-BB, TIMP-3, аргинин1, YM1, ИЛ27R, CXCR4, IGF-1 |
| М2б | Иммунные комплексы, агонисты TLRs, ИЛ-1 | CD86 ⁺ , HLAII ⁺ | IL-10, CCL1, CXCL3, IL-6, TNF- α , SPHK1, iNOS |
| М2с | IL-10, кортикостероиды | CD163 ⁺ , HLAII ⁺ | IL-10, MMP9, IL-1b |
| М2d | IL-6, аденозин | | |

Дендритные клетки (англ. *dendritic cells*). Дендритные клетки (ДК) – это семейство субпопуляций крупных (15–20 мкм) антигенпрезентирующих клеток костномозгового происхождения круглой, овальной или полигональной формы с эксцентрически расположенным ядром, многочисленными разветвлениями и отростками мембраны, присутствующими на разных стадиях созревания в следовых количествах в крови, лимфоидных и нелимфоидных органах [47].

Вследствие наличия множественных выростов цитоплазматической мембраны ДК имеют большую площадь поверхности, что позволяет им активно взаимодействовать с внешней средой, распознавать паттерны микробов, погибших клеток, растворимые молекулы, другие клетки организма и обеспечивать активацию первичного (наивного) и вторичного В-зависимого и Т-клеточного иммунного ответа (клетки памяти). С момента открытия R. Steinmann, Z. Cohn [9] этих клеток их называют естественными адьювантами иммунного ответа. В периферической крови их содержится менее 2 %. ДК характеризуются сложной фенотипической и функциональной гетерогенностью. Наиболее приемлемая модель их происхождения предполагает, что они имеют общего миелоидного предшественника (ОМП) и/или общего лимфоидного предшественника (ОЛП), дающих начало классическим, или конвенциональным, клеткам – кДК (cDC) или плазмацитоидным клеткам – пДК (pDC) [48] (см. рисунок). Предшественники ДК в костном мозге дифференцируются в незрелые клетки с высокой активностью эндоцитоза и слабой способностью активировать Т-лимфоциты, составляют основную массу клеток, мониторирующих внутреннюю среду организма. Воздействие молекулярных паттернов, ассоциированных с патогенами (ПАМПС), и молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждением тканей (ДАМПс), а также сигналов воспалительных цитокинов стимулирует их созревание. Активация и созревание ДК ассоциируются с повышением экспрессии молекул II класса, молекул ко-стимуляции – CD80, CD86 и CD40, хемокинового рецептора CCR7, продукцией цитокинов, активацией других типов клеток врожденного иммунитета, повышением миграции [49, 50]. При сепсисе содержание обеих субпопуляций ДК в периферической крови и селезенке снижается, а функциональные нарушения длительно сохраняются. Снижение ДК в периферической крови коррелирует с тяжестью течения заболевания и повышает риск смертельного исхода. При этом ДК экспрессируют низкий уровень молекул II класса и продуцируют ИЛ-10, что приводит к их неспособности обеспечить быстрый и адекватный Т-клеточный иммунный ответ [51]. Незрелые ДК фагоцитируют и умерщвляют микроорганизмы, расщепляют молекулы белков до пептидов, созревая при этом до стадии представления последних на поверхности мембран клеток в комплексе с HLA молекулами I–II класса (иммуногенные комплексы) наивным Т-клеткам. Они также способны отщипывать и поглощать фрагменты мембран собственных клеток. При контакте с антигеном ДК активируются и дифференцируются в зрелые клетки, мигрирующие в лимфатические узлы [52]. В костном мозге общие предшественники гранулоцитов, макрофагов и ДК (ПДК-ГМ) имеют иммунофенотип $Lin-CD34^+CD38^+CD10^-CD45RA^+Flt3^+CD123^+M-CSFR^-$. Приобретение способности экспрессировать рецепторы для M-CSF изменяет их фенотип, они могут дифференцироваться в макрофаги и ДК [53]. Предшественники макрофагов и ДК усиливают экспрессию CD123, что направляет их дифференциацию в классические (кДК) и более лимфоидного характера плазмацитоидные клетки (пДК).

Субпопуляции ДК (англ. *dendritic cells subpopulations*). Циркулирующие в периферической крови ДК представлены предшественниками костного мозга и созревающими ДК, праймированными чужеродными антигенами и мигрирующими в периферические лимфоидные образования [54]. В отличие от моноцитов субпопуляции ДК праймируют клоны наивных $CD4^+$ Т-лимфоцитов. Для эффективного праймирования *in vitro* $CD8^+$ Т-клеток этими субпопуляциями необходима стимуляция TLRs или помощь $CD4^+$ Т-лимфоцитов [55]. ДК характеризуются более длительным периодом полужизни в сравнении с моноцитами и макрофагами. Незрелые ДК могут длительное время сохраняться в неактивном состоянии.

В соответствии с современной классификацией ДК подразделяют на ряд субпопуляций – миелоидные (классические/конвенционные) (англ. *myeloid (classical/conventional)*) – мДК (mDC), плазмацитоидные (англ. *plasmacytoid*) – пДК (pDC) и моноцитарные (англ. *monocytoid*) – моДК (moDC) [56, 57]. Кроме того, по степени зрелости их подразделяют на незрелые – нзДК (immDC) и зрелые – зДК (matDC).

Миелоидные ДК образуются из костномозговых предшественников, которые циркулируют в периферической крови, мигрируют в ткани и дифференцируются в незрелые ДК. Конвенционные ДК имеют иммунофенотип $CD11c^+$, $aHLA-DRII^+$, $CD123dim$ подразделяются на кДК1 (cDC1) ($BDCA-3^+/CD141^+$) и кДК2 (cDC2) ($BDCA-1/CD1c^+$) субпопуляции, презентующие

иммуногенные пептиды CD4⁺ и CD8⁺Т-лимфоцитам. Субпопуляция клеток, несущих CD141⁺, считается более эффективной. CD1c⁺ кДК ко-экспрессируют молекулы CD11b и CD11c, тогда как CD141⁺ кДК слабо экспрессируют CD11c и CD11b, но селективно экспрессируют CLEC9A. Развитие миелоидных кДК1 зависит от функции ряда транскрипционных факторов – GATA-2, PU.1, GF11, Id2, IRF8, BATF3 и IKZF1. Дополнительными факторами дифференцировки в костном мозге являются КСФ-ГМ и ИЛ-4 [58]. Они рассматриваются как субпопуляция, стимулирующая CD8⁺ и CD4⁺ Т-клетки, а также как естественные киллеры. Развитие субпопуляции миелоидных кДК2 также детерминируется рядом транскрипционных факторов – GATA2, PU.1, GF11, ID2, ZEB2, RELB, IRF4, NOTCH2 и KLF4. Данная субпопуляция эффективна в инициации иммунного ответа при раневой инфекции. Незрелые ДК характеризуются фенотипом CD11c⁺, CD86⁻, HLA-II^{low}, CD40⁻, CD80^{low}, CD54^{low}, OX40⁻, CD8⁻. Зрелые кДК имеют фенотип CD11c⁺, CD83⁺, CD86⁺, HLA-I^{high}, HLA-II^{high}, CD40⁺, CD80⁺, CD54⁺, OX40⁺ и CD8⁻. Субпопуляции CD141⁺ и CD1c⁺ обнаружены в крови, лимфатических узлах, селезенке и нелимфоидных тканях, включая кожу, печень, легкие и кишечник [59]. Они различаются по спектру TLRs и характеру ответной реакции. CD1c⁺ кДК не экспрессируют TLR9, а CD141⁺ кДК имеют высокий уровень экспрессии TLR2, TLR6, TLR8 и низкий – TLR7 и TLR9. При активации клеток посредством TLR-3 CD1c⁺ кДК продуцируют широкий репертуар секретируемых белков, включая ИЛ-1б, ИЛ-12, ИЛ-6, ФНО-α, CXCL8/ИЛ-8, CCL3, CCL4, CCL5, CXCL-10. Обе субпопуляции продуцируют ИЛ-12p70 [60]. В коже имеется новая субпопуляция ДК – CD5⁺, дифференцирующаяся из гематопозитических предшественников с фенотипом CD34-CD123⁺CD45RA⁺CD117(dim).

Плазмацитоидные ДК. К пДК относят клетки иммунофенотипа Lin-HLA-DR⁺, CD303, CLEC4, (BDCA-2), CD304, NRP1 (BDCA-4 или нейропилин), циркулирующие в крови и лимфатических узлах. Развитие пДК регулируется транскрипционными факторами E2-2, негативно регулируемым транскрипционным фактором ID2. Баланс активности этих транскрипционных факторов определяет дифференцировку этих двух линий ДК – мДК и пДК. Они плохо экспрессируют антигены миелоидной линии – CD11b, CD11c, CD13CD33, но экспрессируют молекулу CD45RA⁺, которая угнетает дифференцировку предшественников ДК в мДК. Кроме того, они экспрессируют CD4, вариабельно – CD2, CD5 и CD7, могут нести гены Т-клеточного рецептора и иммуноглобулинов. Данная субпопуляция является основным эффекторным типом ДК вследствие способности продуцировать в 1000 раз больше молекул интерферонов первого типа или альфа/бета-интерферонов при вирусной инфекции. Кроме того, они экспрессируют высокий уровень эндосомальных молекул TLR7 и TLR9, распознающих нуклеиновые кислоты микробов и погибших клеток хозяина [61]. В состоянии покоя пДК являются слабыми активаторами наивных CD4⁺ Т-клеток из-за сниженной фагоцитарной активности, низкой экспрессии молекул II класса и рецепторов ко-стимуляции [62]. В отсутствие стимулирующих сигналов они толерогенны и участвуют в индукции Т-клеточной анергии и регуляторных Т-клеток [63]. При стимуляции они приобретают характерную для ДК морфологию, усиливают экспрессию молекул II класса и молекул ко-стимуляции, дифференцируются в зрелые АПК, активирующие наивные CD4⁺Т-клетки, регулируют ответ Th1, Th2 и Th17. Эти клетки локализуются в Т-зависимых зонах лимфоидных органов, ингибируют противоопухолевый иммунный ответ (повышенный уровень интерферона-альфа выявляется во многих опухолях). На мембране пДК экспрессируют индоламин-2,3-диоксигеназу (ИДО), трансформирующую молекулы триптофана, необходимые для активации Т-лимфоцитов и генерации регуляторных Т-клеток [64]. Разработка методов и препаратов модуляция функции пДК является перспективным направлением в регуляции их функций и в восстановлении противоопухолевого иммунитета [65, 66].

Клетки Лангерганса (англ. *Langerhans cells*). Длительное время клетки Лангерганса (КЛ) оставались недостаточно исследованными. Ситуация изменилась в последние 10–15 лет. Эти клетки составляют 3–5 % от всех ядерных клеток эпидермиса, локализуются преимущественно в эпидермисе кожи и тесно ассоциированы с кератиноцитами. Кроме того, они выявлены в слизистой ротовой полости и влагалища. По форме они подобны макрофагам и ДК. На мембране этих клеток экспрессируются молекулы CD1a, CD1c, CD11c⁺, HLA-DRII⁺, лектин С-типа – лангерин (CD207). В цитоплазме содержат крупные гранулы [67]. Регуляция КЛ связана с трансфор-

мирующим ростовым фактором бета и ассоциированными с ним транскрипционными факторами – PU.1, Id2 и RUNX3 [68]. В коже при распознавании чужеродных молекулярных паттернов КЛ продуцируют провоспалительные цитокины и рекрутируются в лимфатические узлы. Интерлейкин 34, продуцируемый кератиноцитами, влияет на их развитие, гомеостаз и регенерацию. У пациентов с atopическим дерматитом в биоптатах кожи выявляется значительное присутствие КЛ, Th2, Th17. Они стимулируют продукцию ИЛ-23 гамма/дельта Т-клетками.

Активация и созревание. В состоянии покоя ДК являются незрелыми, но праймированными и готовыми для взаимодействия с антигеном посредством разнообразных механизмов. Инфекция или повреждение тканей индуцирует клетки естественного иммунитета (моноциты, макрофаги, ДК, нейтрофилы) к распознаванию молекулярных паттернов патогенов и/или молекулярных паттернов повреждения тканей. Основными молекулярными паттернами клеток системы мононуклеарных фагоцитов являются толл-подобные рецепторы (TLRs), NOD-подобные рецепторы и индуцибельный ген-1 ретиноидной кислоты [69]. При взаимодействии патогенов с рецепторами и под воздействием их активационных сигналов в ДК запускается комплекс сложных молекулярных биохимических реакций, результатом которых являются экспрессия комплекса генов, изменение фенотипических и функциональных свойств клеток, совокупность которых определяются терминами «активация» и «созревание». В активированном состоянии ДК характеризуются повышенной экспрессией рецепторов хемокинов (CCR7), молекул адгезии, молекул костимуляции (CD54⁺, CD80⁺, CD86⁺⁺), способностью образовывать иммунопротеосомы, синтезировать молекулы I и II класса, а также ИЛ-12. Присутствие последних является сигналом для наивных CD4 Т-клеток дифференцироваться в клетки Th1 типа. Продуцируя значительные количества интерферон-альфа, пДК рекрутируют более активированные макрофаги и стимулируют их к фагоцитозу. Кроме того, происходящие в результате активации молекулярно-геномические изменения стимулируют миграцию в лимфоидные органы и взаимодействие с Т- и В-лимфоцитами [70].

Дендритные клетки тканей. Активированные зрелые ДК лимфатических узлов гетерогенны, представлены CD103⁺ мигрирующими из периферических тканей, а также CD141⁺ и CD1a⁺ ДК. Они экспрессируют высокий уровень молекул CD80⁺⁺, CD86⁺⁺, CD40⁺⁺, HLAII⁺⁺, обладают выраженной антигенпредставляющей активностью Т-лимфоцитам, определяют конечные механизмы реализации естественного и приобретенного иммунитета [71]. В тимусе имеется три субпопуляции ДК: CD8⁺ кДК (50 %), Sigra⁺ кДК (20 %) и пДК (30 %). Миграция их в тимус определяется хемотаксисом, зависимым от CCR2 и CCR9 рецепторов. В селезенке на долю ДК приходится 20 %, и все они являются CD8⁺. Незрелые ДК селезенки проявляют низкий уровень экспрессии молекул HLA II, CD80, CD86, CD40, пролиферируют в присутствии Flt3⁺ и экспрессируют дополнительно молекулы CD205⁺, CD207⁺, Slec9a⁺ [72]. ДК могут мигрировать через эндотелий лимфатических сосудов в дренирующие лимфатические узлы в ответ на воздействие хемокинов CCL19 и CCL21.

В крови и миндалинах основными популяциями являются CD1c⁺ мДК и CD123⁺ пДК. Однако вычлениют и другие, такие как CD16⁺ в крови и CD141⁺ в крови и миндалинах [73]. В кишечнике ДК локализуются преимущественно в собственной пластинке слизистой оболочки и особенно Пейеровых бляшках тонкого кишечника. Они имеют фенотип CD103⁺, CD8⁺, CD207⁺ с низким уровнем экспрессии HLA-DR молекул. Толерогенные свойства ДК кишечника регулируются локальными факторами эпителия. Тимический стромальный фактор эпителиоцитов ингибирует продукцию ИЛ-12 и стимулирует ответ Th2 типа. В мышечном слое слизистой локализуются ДК, экспрессирующие CD103⁺ и CD11b⁺ маркеры [74]. Они продуцируют ретиноидную кислоту и фактор роста тромбоцитов, усиливая образование Т-regs. В коже выявлены две их субпопуляции – лангерин⁺/CD207⁺ эпидермальные КЛ (2–4 %) и DC-SIGN/CD209⁺ ДК кожи [75]. Субпопуляция ДК CD141⁺ эффективна в активации CD4⁺ Т-лимфоцитов. ДК легких также имеют тканеспецифические свойства и могут стимулировать ответ Th-2 типа. В коже выявлена новая субпопуляция ДК – CD5⁺, дифференцирующаяся из гематопозитических предшественников с фенотипом CD34-CD123⁺CD45RA⁺CD117(dim).

Процессирование и презентация ДК экзогенных антигенов. Незрелые ДК из костного мозга расселяются по всему организму и находятся в состоянии ожидания контактов с патогенами.

При этом первичной функцией незрелых ДК является их распознавание, захват и поглощение в эндосомальный компартмент клетки, характеризующийся высоким содержанием эндолизосом и молекул HLA-DR II класса. Антигены при этом подвергаются деградации кислыми протеазами до полипептидов по 13–18 последовательностей, которые затем связываются молекулами II класса, образуя иммуногенный комплекс – пептид + молекулы II класса с последующей его презентацией на мембране клетки и распознаванием антигенспецифическими рецепторами субпопуляций CD4⁺ Т-лимфоцитов. В результате формирования двух сигналов – активационного (антигенспецифического) и ко-стимуляторного (неспецифического) происходят активация Т-лимфоцитов, стимуляция к пролиферации и развитие иммунного ответа [49].

Процессирование и презентация ДК эндогенных антигенов. Презентация эндогенных антигенов молекулами HLA I класса происходит на мембране всех ядродержащих клеток при деградации цитозольных белков и образовании комплекса пептид + молекулы HLA I класса в эндоплазматическом ретикулуме. Пептиды транспортируются АТФ-зависимым механизмом в эндоплазматический ретикулум транспортерами TAP1 и TAP2. Пептиды могут быть разной длины, но оптимальным является 6–16 аминокислот [66]. Так происходит процессирование антигенов внутриклеточных патогенов – вирусов и бактерий, ускользнувших от расщепления в процессе эндоцитоза, и аутоантигенов. Везикулы с иммуногенным комплексом доставляются на мембрану клеток, где и распознаются CD8⁺ Т-лимфоцитами. Макрофаги и ДК являются важнейшими «дирижерами» как провоспалительного, так и противовоспалительного иммунного ответа. Противовоспалительные ДК обладают иммуносупрессивными свойствами, способствуют ослаблению иммунного ответа, созданию и поддержанию толерантности. Они названы регуляторными ДК (регДК) или толерогенными ДК (толДК) [76, 77]. Разработаны методы получения толДК *in vitro*, а также методы получения на их основе клеточных продуктов с целью иммунотерапии аутоиммунных и аллергических заболеваний [78].

Миелоидные супрессорные клетки (МСК). Представлены гетерогенной группой пластичных миелоидных клеток, образуемых из незрелых миелоидных предшественников в костном мозге. Они редко выявляются у здоровых людей и обнаруживаются в крови при различных патологических состояниях. Впервые они выявлены у пациентов с онкологическими заболеваниями, а затем повышенное их содержание обнаружено при сепсисе [79]. Их происхождение и рекрутирование из костного мозга недостаточно изучены, но участие в этом ИЛ-6, ИЛ-10, КСФ-ГМ и толл-рецепторов предполагается. МСК существуют в двух субпопуляциях: первая – моноцитарная субпопуляция (мо-МСК), вторая – субпопуляция полиморфноядерных или гранулоцитарных супрессорных клеток (пмя-СМК или гр-СМК). Миелоидные мо-МСК считаются более зрелыми и экспрессируют CD11b⁺, CD14⁺, HLA-DR^{low/+}, CD15⁻ на их поверхности; пня-МСК считаются менее зрелыми, экспрессируют CD11b⁺, CD15⁺ (или CD66b), CD14⁻, но слабо экспрессируют маркеры Lin⁻. Дефекты дифференциации миелоидных клеток являются одними из основных факторов формирования состояния неответственности (анергии) и иммуносупрессии при злокачественных новообразованиях, хронических инфекционных заболеваниях и сепсисе [80]. Последствием дефектной дифференциации миелоидных клеток является угнетение естественных механизмов образования моноцитов, макрофагов, ДК и аккумуляция в периферической крови и лимфоидных органах клеток миелоидного происхождения с супрессорной функцией. МСК могут реализовать различные механизмы иммуносупрессии, приводящие к угнетению активации субпопуляций Т-лимфоцитов. Продукция иммуносупрессивных факторов (трансформирующего ростового фактора бета (ТрФ-β) и ИЛ-10) и регуляторных Т-клеток (Tregs) сопровождается супрессией антигенспецифического CD4⁺Th1-клеточного ответа и поляризацией CD4⁺Th2-иммунного ответа. Их повышенное содержание при сепсисе определяет темпы угнетения иммунного ответа и повреждение тканей. Однако роль и регуляция МСК при заболеваниях не ясна, что и определяет повышенный интерес исследователей к их изучению при разнообразной патологии и особенно к выяснению механизмов их генеза и разработке иммунокорректирующей терапии. Изучение их роли и возможностей регуляции при иммуносупрессивных заболеваниях и вторичных иммунодефицитах позволит быстрее раскрыть и глубже понять механизмы развития аллергических и аутоиммунных процессов.

Заключение. Моноциты, макрофаги и ДК являются наиболее популярными клеточными моделями изучения биологии иммунной системы, разработки методов регуляции функций, установления функциональной роли в иммунном ответе против инфекционных агентов, новообразований, развития реакций немедленного и замедленного типов, иммуносупрессии и толерантности. К настоящему времени достигнут заметный прогресс в понимании морфологических и физиологических свойств этих клеток, их генетической и функциональной гетерогенности, взаимодействия с Т- и В-лимфоцитами, естественными киллерами. Решающую роль в этом оказали технологии культивирования клеток *in vitro*, использование моноклональных антител к поверхностным и внутриклеточным маркерам, а также молекулярно-генетических методов, включая ПЦР-анализ, секвенирование и профилирование генов транскрипционных факторов и основных маркеров методом микроэрепей [81–85]. Интенсивно исследуются закономерности образования и дифференцировки костномозговых предшественников, физиологические ритмы количественных и функциональных изменений, мобилизация клеток-предшественников из костного мозга, миграция в ткани и распределение в организме конечных типов клеток. Полученные в ходе многочисленных экспериментальных и клинических исследований данные свидетельствуют о значительном потенциале клеток СМФ как в обеспечении неспецифических механизмов защиты от инфекции, так и в регуляции специфического иммунного ответа. Вместе с тем патофизиологические закономерности функционирования этих клеток изучены недостаточно. Не установлены причины и механизмы возникновения дисбаланса субпопуляций, не дана интегральная оценка функционирования системы при инфекционных, онкологических, аутоиммунных, аллергических и сердечно-сосудистых заболеваниях, не разработаны препараты и методы коррекции.

Моноциты, макрофаги и ДК привлекают внимание ученых и клиницистов в связи с развитием научных направлений по созданию на их основе клеточных иммунобиологических продуктов для иммунотерапии заболеваний.

Первое направление базируется на получении иммуностимуляторных (адьювантных) аутологичных мДК путем культивирования с КСФ-ГМ и ИЛ-4, додифференциации в незрелые ДК. Дальнейшая стимуляция нзДК фактором некроза опухолей альфа обеспечивает их созревание. Праймирование зрелых ДК антигенами (пептидами мутантных опухолевых белков, пептидов из микробных белков) позволяет восстановить функцию Т-клеточного иммунного ответа пациентов с онкозаболеваниями и хроническими инфекциями [86–88]. Многочисленные исследования в этой области подтверждают клиническую и иммунологическую эффективность персонифицированных вакцин на основе ДК. Данная технология стала все шире применяться в клинической практике.

Второе направление основывается на получении толерогенных клеточных продуктов на основе макрофагов и ДК для иммунотерапии пациентов с аутоиммунными заболеваниями [89, 90]. Применение обоих типов клеточных продуктов представляется безопасным для пациентов, способствует восстановлению нарушенных функций иммунной системы, включая контроль за атипичными клетками, экспансией опухоли, снижает негативные эффекты химиотерапии.

В настоящее время в мире выполняется более 70 научных проектов по разработке новых технологий получения вакцин на основе макрофагов и ДК. Управление по санитарному надзору за качеством медикаментов и пищевых продуктов США (FDA) в 2017 г. одобрило клеточный продукт “Sipulteucel-T” (Provence, США) для иммунотерапии бессимптомного и минимально-симптоматического метастатического рака предстательной железы. Несомненный интерес вызывают исследования по разработке клеточных продуктов на основе макрофагов и ДК с толерогенными свойствами. Важным представляется поиск модуляторов функциональной активности клеток системы мононуклеарных фагоцитов бактериального, растительного и синтетического происхождения. Не вызывает сомнений перспективность подобных разработок в создании биологических продуктов и их лекарственных форм для лечения пациентов, иммунный статус которых характеризуется нарушениями дифференцировки миелоидных клеток, замедленной их мобилизацией, образованием миелоидных супрессорных клеток либо нарушением механизмов иммунологической толерантности и/или избыточным иммунопатологическим ответом на экзо- и ауто-

антигены. В то же время исследователям предстоит не только разработать стандартизованные клеточные продукты, клинические протоколы вакцинации/иммунизации, но и дать оценку специфическому иммунному ответу и клиническим маркерам эффективности, а также долгосрочным последствиям при применении данных типов иммунотерапии. С этой целью необходимо поддерживать и развивать в стране как фундаментальные, так и прикладные научные исследования по физиологии и патологии клеток системы мононуклеарных фагоцитов, разработке новых клеточных и геномных технологий для их практического применения в медицине.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Титов, Л. П. Медицинская геномика: организация генома, регуляция экспрессии генов, генетическая вариабельность / Л. П. Титов // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2015. – № 4. – С. 97–113.
2. Defining “mutation” and “polymorphism” in the era of personal genomics / R. Karki [et al.] // BMC Med. Genomics. – 2015. – Vol. 8, N 37. – 7 p. <https://doi.org/10.1186/s12920-015-0115-z>
3. Cell components in the immune response: II. Cell attachment separation of immune cells / K. Hartmann [et al.] // Cell. Immunol. – 1970. – Vol. 1, N 2. – P. 182–189. [https://doi.org/10.1016/0008-8749\(70\)90005-5](https://doi.org/10.1016/0008-8749(70)90005-5)
4. Pierce, C. W. Requirement for macrophages in primary and secondary humoral responses / C. W. Pierce // Immunology / ed. : J. A. Bellanti, H. B. Herscovitz. – Boston, 1984. – P. 157–171.
5. Burnet, F. M. A modification of Jerne’s theory of antibody production using the concept of clonal selection / F. M. Burnet // CA: A Cancer J. for Clinicians. – 1976. – Vol. 26, N 2. – P. 119–121. <https://doi.org/10.3322/canjclin.26.2.119>
6. Metchnikoff, É. Immunity in the infectious diseases / É. Metchnikoff. – Cambridge : Cambridge Univ. Press, 1905. – 617 p.
7. Furth van, R. The origin and kinetics of mononuclear phagocytes / R. van Furth, Z. A. Cohn // J. Exp. Med. – 1968. – Vol. 128, N 3. – P. 415–435. <https://doi.org/10.1084/jem.128.3.415>
8. The mononuclear phagocyte system: a new classification of macrophages, monocytes, and their precursor cells / R. van Furth [et al.] // Bull. of the World Health Organization. – 1972. – Vol. 46, N 6. – P. 845–852.
9. Steinman, R. M. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. II. Functional properties *in vitro* / R. M. Steinman, Z. A. Cohn // J. Exp. Med. – 1974. – Vol. 39, N 2. – P. 380–397. <https://doi.org/10.1084/jem.139.2.380>
10. Mildner, A. Development and function of dendritic cell subsets / A. Mildner, S. Jung // Immunity. – 2014. – Vol. 40, N 5. – P. 642–656. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.04.016>
11. Taylor, P. R. Monocyte heterogeneity and innate immunity / P. R. Taylor, S. Gordon // Immunity. – 2003. – Vol. 19, N 1. – P. 2–4. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(03\)00178-X](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(03)00178-X)
12. Sabado, R. L. Dendritic cell-based immunotherapy / R. L. Sabado, S. Balan, N. Bhardwaj // Cell Res. – 2017. – Vol. 27, N 1. – P. 74–95. <https://doi.org/10.1038/cr.2016.157>
13. Cybulsky, M. I. Macrophages and dendritic cells: partners in atherogenesis / M. I. Cybulsky, C. Cheong, C. S. Robbins // Circ. Res. – 2016. – Vol. 118, N 4. – P. 637–652. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306542>
14. Differentiation of human monocytes and derived subsets of macrophages and dendritic cells by the HLDA10 monoclonal antibody panel / A. Ohradanova-Repic [et al.] // Clin. Transl. Immunol. – 2016. – Vol. 5, N 1. – P. e55. <https://doi.org/10.1038/cti.2015.39>
15. Влияние лекарственных средств на лабораторные показатели : учеб. пособие / О. И. Залюбовская [и др.]. – Харьков : Нац. фармацевт. ун-т, 2010. – 84 с.
16. Italiani, P. From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation / P. Italiani, D. Boraschi // Front. Immunol. – 2014. – Vol. 5. – Art. 514. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00514>
17. Unravelling mononuclear phagocyte heterogeneity / F. Geissman [et al.] // Nat. Rev. Immunol. – 2010. – Vol. 10, N 6. – P. 453–460. <https://doi.org/10.1038/nri2784>
18. Jenkins, S. J. Homeostasis in the mononuclear phagocyte system / S. J. Jenkins, D. A. Hume // Trends Immunol. – 2014. – Vol. 35, N 8. – P. 358–367. <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.06.006>
19. Monocytes and macrophages in flow: an ESCCA initiative on advanced analyses of monocyte lineage using flow cytometry / C. Lambert [et al.] // Cytometry. Pt. B: Clinical Cytometry. – 2017. – Vol. 92, N 3. – P. 180–188. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.21280>
20. Expansion and differentiation of CD14⁺CD16⁻ and CD14⁺CD16⁺ human monocyte subsets from cord blood CD34⁺ hematopoietic progenitors / M. Stec [et al.] // J. Leukoc. Biol. – 2007. – Vol. 82, N 3. – P. 594–602. <https://doi.org/10.1189/jlb.0207117>
21. Gerhardt, T. Monocyte trafficking across the vessel wall / T. Gerhardt, K. Ley // Cardiovasc. Res. – 2015. – Vol. 107, N 3. – P. 321–330. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvv147>
22. Elevated CD14⁺CD16⁻ monocytes predict cardiovascular events / K. E. Berg [et al.] // Circulation: Cardiovascular Genetics. – 2012. – Vol. 5, N 1. – P. 122–131. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.111.960385>
23. Monocyte and macrophage differentiation: circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases / J. Yang [et al.] // Biomarker Res. – 2014. – Vol. 2, N 1. – 9 p. <https://doi.org/10.1186/2050-7771-2-1>
24. Transcriptional profiling reveals developmental relationship and distinct biological functions of CD16⁺ and CD16⁻ monocyte subsets / P. Ancuta [et al.] // BMC Genomics. – 2009. – Vol. 10, N 1. – Art. 403. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-403>

25. Williams Hematology / K. Kaushansky [et al.]. – 9th ed. – New York : McGraw-Hill Education, 2016. – 2528 p.
26. Chernoshey, D. A. Anergy to mycobacterial antigens in lung cancer patients. Abstracts of 8th European Congress on Clinical Microbiology & Infectious Diseases, Lausanne, Switzerland, 25–28 May, 1997 / D. A. Chernoshey, L. P. Titov // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 1997. – Vol. 3, suppl. 2. – P. 344.
27. Титов, Л. П. О взаимосвязи между активностью комплемента и моноцитарной реакцией / Л. П. Титов // Проблемы туберкулеза. – 1978. – Т. 56, № 6. – С. 64–69.
28. Титов, Л. П. Исследование связи между пробой Манту и моноцит-комплементарным индексом у больных туберкулезом легких / Л. П. Титов // Вопросы иммунологии : респ. межвед. сб. науч. работ / редкол. : Л. Г. Борткевич [и др.]. – Минск, 1979. – С. 55–59.
29. Титов, Л. П. Моноцит-комплементарный индекс при заболеваниях инфекционной и неинфекционной этиологии / Л. П. Титов // *Здравоохранение Белоруссии.* – 1989. – № 2. – С. 28–31.
30. Полукчи, О. К. Моноцит-комплементарный индекс у хворих на дифтерію / О. К. Полукчи // *Вісн. Харк. нац. ун-та ім. В. Н. Каразіна. Сер. Медицина.* – 2002. – № 4 (546). – С. 66–68.
31. Doshi, N. Macrophages recognize size and shape of their targets / N. Doshi, S. Mitragotri // *PLoS One.* – 2010. – Vol. 5, N 4. – P. e10051. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010051>
32. Ginhoux, F. Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis / F. Ginhoux, S. Jung // *Nat. Rev. Immunol.* – 2014. – Vol. 14, N 6. – P. 392–404. <https://doi.org/10.1038/nri3671>
33. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors / E. Gomez Perdiguero [et al.] // *Nature.* – 2015. – Vol. 518, N 7540. – P. 547–551. <https://doi.org/10.1038/nature13989>
34. Epelman, S. Origin and functions of tissue macrophages / S. Epelman, K. J. Lavine, G. J. Randolph // *Immunity.* – 2014. – Vol. 41, N 1. – P. 21–35. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.06.013>
35. Plasmacytoid dendritic cells: one-trick ponies or workhorses of the immune system? / B. Reizis [et al.] // *Nat. Rev. Immunol.* – 2011. – Vol. 11, N 8. – P. 558–565. <https://doi.org/10.1038/nri3027>
36. Steimann, R. M. Decisions about dendritic cells: past, present, and future / R. M. Steimann // *Annu. Rev. Immunol.* – 2012. – Vol. 30, N 1. – P. 1–22. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-100311-102839>
37. Gene-expression profiles and transcriptional regulatory pathways underlying mouse tissue macrophage identity and diversity of mouse tissue macrophages / E. L. Gautier [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2012. – Vol. 13, N 11. – P. 1118–1128. <https://doi.org/10.1038/ni.2419>
38. The human syndrome of dendritic cell, monocyte, B and NK lymphoid deficiency / V. Bigley [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2011. – Vol. 208, N 2. – P. 227–234. <https://doi.org/10.1084/jem.20101459>
39. Tissue-resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes / D. Hashimoto [et al.] // *Immunity.* – 2013. – Vol. 38, N 4. – P. 792–804. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.04.004>
40. Wynn, T. A. Macrophage biology in development, homeostasis and disease / T. A. Wynn, A. Chawla, J. W. Pollard // *Nature.* – 2013. – Vol. 496, N 7446. – P. 445–455. <https://doi.org/10.1038/nature12034>
41. Mosser, D. M. Exploring the full spectrum of macrophage activation / D. M. Mosser, J. P. Edwards // *Nat. Rev. Immunol.* – 2008. – Vol. 8, N 12. – P. 958–969. <https://doi.org/10.1038/nri2448>
42. Fraternale, A. Polarization and repolarization of macrophages / A. Fraternale, S. Brundu, M. Magnani // *J. Clin. Cell. Immunol.* – 2015. – Vol. 6, N 2. – P. e319. <https://doi.org/10.4172/2155-9899.1000319>
43. Modulation of macrophage phenotype by cell shape / F. Y. McWhorter [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2013. – Vol. 110, N 43. – P. 17253–17258. <https://doi.org/10.1073/pnas.1308887110>
44. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm / C. D. Mills [et al.] // *J. Immunol.* – 2000. – Vol. 164, N 12. – P. 6166–6173. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.12.6166>
45. Macrophage polarization in inflammatory diseases / Y.-C. Liu [et al.] // *Int. J. Biol. Sci.* – 2014. – Vol. 10, N 5. – P. 520–529. <https://doi.org/10.7150/ijbs.8879>
46. Röszer, T. Understanding the mysterious M2 macrophage through activation markers and effector mechanisms / T. Röszer // *Mediators of Inflammation.* – 2015. – Vol. 2015. – Art. 816460. <https://doi.org/10.1155/2015/816460>
47. Титов, Л. П. Введение в иммунологию. Иммунокомпетентные клетки / Л. П. Титов // *Медицина.* – 1997. – № 3. – С. 34–35.
48. The developmental program of human dendritic cells is operated independently of conventional myeloid and lymphoid pathways / F. Ishikawa [et al.] // *Blood.* – 2007. – Vol. 110, N 10. – P. 3591–3660. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-02-071613>
49. Basta, S. The cross-priming pathway: a portrait of an intricate immune system / S. Basta, A. Alatery // *Scand. J. Immunol.* – 2007. – Vol. 65, N 4. – P. 311–319. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2007.01909.x>
50. Quantitative and functional differences between peripheral blood myeloid dendritic cells from patients with pleural and parenchymal lung tuberculosis / M. Mendelson [et al.] // *Clin. Vaccine Immunol.* – 2006. – Vol. 13, N 12. – P. 1299–1306. <https://doi.org/10.1128/CVI.00132-06>
51. Martín-Fontecha, A. Dendritic cell migration to peripheral lymph nodes / A. Martín-Fontecha, A. Lanzavecchia, F. Sallusto // *Dendritic Cells* / ed. : G. Lombardi, Y. Riffo-Vasquez. – Berlin, 2009. – P. 31–49.
52. HLA-G expression levels influence the tolerogenic activity of human DC-10 / G. Amodio [et al.] // *Haematologica.* – 2015. – Vol. 100, N 4. – P. 548–557. <https://doi.org/10.3324/haematol.2014.113803>
53. Boltjes, A. Human dendritic cell functional specialization in steady-state and inflammation / A. Boltjes, F. van Wijk // *Frontiers in Immunology.* – 2014. – Vol. 5. – Art. 131. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00131>
54. *In vitro* maturation and migration of immature dendritic cells after chemokine receptor 7 transfection / H.-M. Xin [et al.] // *Can. J. Microbiol.* – 2009. – Vol. 55, N 7. – P. 859–866. <https://doi.org/10.1139/w09-041>

55. Chu, J. The central role of dendritic cells in immunity / J. Chu, R. D. Salter // *Dendritic Cells in Cancer* / ed. : M. R. Shurin, R. D. Salter. – New York, 2009. – P. 1–10.
56. The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting / M. Merad [et al.] // *Annu. Rev. Immunol.* – 2013. – Vol. 31, N 1. – P. 563–604. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-020711-074950>
57. A CD1a⁺/CD11c⁺ subset of human blood dendritic cells is a direct precursor of Langerhans cells / T. Ito [et al.] // *J. Immunol.* – 1999. – Vol. 163, N 3. – P. 1409–1419.
58. Dendritic cells in autoimmune diseases / B. Ludewig [et al.] // *Curr. Opin. Immunol.* – 2001. – Vol. 13, N 6. – P. 657–662. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(01\)00275-8](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(01)00275-8)
59. Kushwah, R. Role of dendritic cells in the induction of regulatory T cells / R. Kushwah, J. Hu // *Cell Biosci.* – 2011. – Vol. 1. – Art. 20. <https://doi.org/10.1186/2045-3701-1-20>
60. Diebold, S. S. Activation of dendritic cells by toll-like receptors and C-type lectins / S. S. Diebold // *Dendritic Cells* / ed. : G. Lombardi, Y. Riffo-Vasquez. – Berlin, 2009. – P. 3–30.
61. Production of large numbers of plasmacytoid dendritic cells with functional activities from CD34⁺ hematopoietic progenitor cells: use of interleukin-3 / S. Demoulin [et al.] // *Exp. Hematol.* – 2012. – Vol. 40, N 4. – P. 268–278. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2012.01.002>
62. Plasmacytoid dendritic cells: development, functions, and role in atherosclerotic inflammation / D. A. Chistiakov [et al.] // *Frontiers in Physiology.* – 2014. – Vol. 5. – Art. 279. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00279>
63. Иммунофенотип и функциональные свойства моноцитарных дендритных клеток больных раком молочной железы / Л. П. Титов [и др.] // *Здравоохранение.* – 2010. – № 10. – С. 52–55.
64. Kahler, D. J. T cell regulatory plasmacytoid dendritic cells expressing indoleamine 2,3 dioxygenase / D. J. Kahler, A. L. Mellor // *Dendritic Cells* / ed. : G. Lombardi, Y. Riffo-Vasquez. – Berlin, 2009. – P. 165–196.
65. Altered maturation of peripheral blood dendritic cells in patients with breast cancer / S. Della Bella [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2003. – Vol. 89, N 8. – P. 1463–1472. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601243>
66. Титов, Л. П. Противоопухолевый иммунитет и иммунотерапия онкозаболеваний / Л. П. Титов // *Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук.* – 2002. – № 2. – С. 103–116.
67. Ginhoux, F. Ontogeny and homeostasis of Langerhans cells / F. Ginhoux, M. Merad // *Immunol. Cell Biol.* – 2010. – Vol. 88, N 4. – P. 387–392. <https://doi.org/10.1038/icb.2010.38>
68. Communication between human dendritic cell subsets in tuberculosis: requirements for naive CD4⁺ T cell stimulation / L. Lozza [et al.] // *Front. Immunol.* – 2014. – Vol. 5. – Art. 324. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00324>
69. Kushwah, R. Complexity of dendritic cell subsets and their function in the host immune system / R. Kushwah, J. Hu // *Immunology.* – 2011. – Vol. 133, N 4. – P. 409–419. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2011.03457.x>
70. Circulating dendritic cells and interferon-alpha production in patients with tuberculosis: correlation with clinical outcome and treatment response / M. Lichtner [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* – 2006. – Vol. 143, N 2. – P. 329–337. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2005.02994.x>
71. El Shikh, M. E. Follicular dendritic cells in health and disease / M. E. El Shikh, C. Pitzalis // *Front. Immunol.* – 2012. – Vol. 3. – Art. 292. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00292>
72. Notch2 receptor signaling controls functional differentiation of dendritic cells in the spleen and intestine / K. L. Lewis [et al.] // *Immunity.* – 2011. – Vol. 35, N 5. – P. 780–791. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2011.08.013>
73. Lindstedt, M. Gene family clustering identifies functionally associated subsets of human *in vivo* blood and tonsillar dendritic cells / M. Lindstedt, K. Lundberg, C. A. Borrebaeck // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 175, N 8. – P. 4839–4846. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.8.4839>
74. Origin of the lamina propria dendritic cell network / M. Bogunovic [et al.] // *Immunity.* – 2009. – Vol. 31, N 3. – P. 513–525. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2009.08.010>
75. Dendritic cells: biology of the skin / M. J. Toebak [et al.] // *Contact Dermatitis.* – 2009. – Vol. 60, N 1. – P. 2–20. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.2008.01443.x>
76. Li, H. Tolerogenic dendritic cells and their applications in transplantation / H. Li, B. Shi // *Cell. Mol. Immunol.* – 2015. – Vol. 12, N 1. – P. 24–30. <https://doi.org/10.1038/cmi.2014.52>
77. Sim, W. J. Metabolism is central to tolerogenic dendritic cell function / W. J. Sim, P. J. Ahl, J. E. Connolly // *Mediat. Inflamm.* – 2016. – Vol. 2016. – Art. 2636701. <https://doi.org/10.1155/2016/2636701>
78. Rheumatoid arthritis synovium contains plasmacytoid dendritic cells / L. L. Cavanagh [et al.] // *Arthritis Res. Ther.* – 2005. – Vol. 7, N 2. – P. R230–R240. <https://doi.org/10.1186/ar1467>
79. Gabrilovich, D. I. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system / D. I. Gabrilovich, S. Nagaraj // *Nat. Rev. Immunol.* – 2009. – Vol. 9, N 3. – P. 162–174. <https://doi.org/10.1038/nri2506>
80. Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards / V. Bronte [et al.] // *Nat. Commun.* – 2016. – Vol. 7. – Art. 12150. <https://doi.org/10.1038/ncomms12150>
81. Титов, Л. П. Регуляция экспрессии генов иммунной системы и ее оценка методом микроэрепей / Л. П. Титов // 90 лет в авангарде микробиологической науки Беларуси : сб. тр. Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 125-летию со дня рождения Б. Я. Эльберта, Минск, 18 дек. 2015 г. / Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. Л. П. Титова. – Минск, 2015. – С. 144–163.
82. Титов, Л. П. Микро-РНК: новый класс регуляторных молекул иммунного ответа и инфекционного процесса / Л. П. Титов // *Современные проблемы инфекционной патологии человека* : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр эпидемиологии и микробиологии ; под ред. Л. П. Титова (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2012. – Вып. 5. – С. 256–261.

83. Гончаров, А. Е. Иммунобиологический эффект последовательностей ДНК бактерий рода *Klebsiella*, содержащих CpG мотивы, на моноцитарные дендритные клетки / А. Е. Гончаров, Л. П. Титов // *Здравоохранение*. – 2007. – № 11. – С. 9–12.

84. Характеристика экспрессии костимуляторных и адгезивных молекул миелоидных и плазматоидных дендритных клеток пациентов с рассеянным склерозом / А. Е. Гончаров [и др.] // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси*. – 2010. – Т. 54, № 6. – С. 82–88.

85. Мононуклеарные фагоциты, регуляторные Т-лимфоциты, циркулирующие стволовые и эндотелиальные клетки у пациентов с атеросклеротической аневризмой аорты / Л. П. Титов [и др.] // *Здравоохранение*. – 2016. – № 1. – С. 4–10.

86. Иммунофизиологическая и клиническая эффективность иммунотерапии пациентов с мультирезистентным туберкулезом легких нановакциной на основе аутологичных моноцитарных дендритных клеток / Л. П. Титов [и др.] // *Здравоохранение*. – 2012. – № 1. – С. 53–60.

87. Противорецидивная иммунотерапия рака молочной железы вакциной на основе аутологичных дендритных клеток / А. Е. Гончаров [и др.] // *Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук*. – 2014. – № 3. – С. 4–19.

88. Ferlazzo, G. Dendritic cell-based immunotherapy of cancer: current pitfalls and challenges / G. Ferlazzo, L. Moretta // *Dendritic cells: types, life cycles and biological functions* / ed. L. C. Welles. – New York, 2010. – P. 179–185.

89. Adorini, L. Induction of tolerogenic dendritic cells by vitamin D receptor agonists / L. Adorini, G. Penna // *Dendritic Cells* / ed. : G. Lombardi, Y. Riffo-Vasquez. – Berlin, 2009. – P. 251–273.

90. Hilkens, C. M. Tolerogenic dendritic cell therapy for rheumatoid arthritis: where are we now? / C. M. Hilkens, J. D. Isaacs // *Clin. Exp. Immunol.* – 2013. – Vol. 172, N 2. – P. 148–157. <https://doi.org/10.1111/cei.12038>

References

1. Titov L. P. Medical genomics: human genome organization, gene expression regulation and genetic variability. *Vestsi Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2015, no. 4, pp. 97–113 (in Russian).

2. Karki R., Pandya D., Elston R. C., Ferlini Cr. Defining “mutation” and “polymorphism” in the era of personal genomics. *BMC Medical Genomics*, 2015, vol. 8, no. 37. 7 p. <https://doi.org/10.1186/s12920-015-0115-z>

3. Hartmann K., Dutton R. W., McCarthy M. M., Mishel R. I. Cell components in the immune response: II. Cell attachment separation of immune cells. *Cellular Immunology*, 1970, vol. 1, no. 2, pp. 182–189. [https://doi.org/10.1016/0008-8749\(70\)90005-5](https://doi.org/10.1016/0008-8749(70)90005-5)

4. Pierce C. W. Requirement for macrophages in primary and secondary humoral responses. *Immunology*. Boston, 1984, pp. 157–171.

5. Burnet F. M. A modification of Jerne’s theory of antibody production using the concept of clonal selection. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 1976, vol. 26, no. 2, pp. 119–121. <https://doi.org/10.3322/canjclin.26.2.119>

6. Metchnikoff É. *Immunity in infectious diseases*. Cambridge, Cambridge University Press, 1905. 617 p.

7. Furth van R., Cohn Z. A. The origin and kinetics of mononuclear phagocytes. *Journal of Experimental Medicine*, 1968, vol. 128, no. 3, pp. 415–435. <https://doi.org/10.1084/jem.128.3.415>

8. Furth van R., Cohn Z. A., Hirsch J. G., Humphrey J. H., Spector W. G., Langevoort H. L. The mononuclear phagocyte system: a new classification of macrophages, monocytes, and their precursor cells. *Bulletin of the World Health Organization*, 1972, vol. 46, no. 6, pp. 845–852.

9. Steinman R. M., Cohn Z. A. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. II. Functional properties *in vitro*. *Journal of Experimental Medicine*, 1974, vol. 39, no. 2, pp. 380–397. <https://doi.org/10.1084/jem.139.2.380>

10. Mildner A., Jung S. Development and function of dendritic cell subsets. *Immunity*, 2014, vol. 40, no. 5, pp. 642–656. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.04.016>

11. Taylor P. R., Gordon S. Monocyte heterogeneity and innate immunity. *Immunity*, 2003, vol. 19, no. 1, pp. 2–4. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(03\)00178-X](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(03)00178-X)

12. Sabado R. L., Balan S., Bhardwaj N. Dendritic cell-based immunotherapy. *Cell Research*, 2017, vol. 27, no. 1, pp. 74–95. <https://doi.org/10.1038/cr.2016.157>

13. Cybulsky M. I., Cheong C., Robbins C. S. Macrophages and Dendritic Cells: Partners in Atherogenesis. *Circulation Research*, 2016, vol. 118, no. 4, pp. 637–652. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306542>

14. Ohradanova-Repic A., Machacek C., Fischer M. B., Stockinger H. Differentiation of human monocytes and derived subsets of macrophages and dendritic cells by the HLDA10 monoclonal antibody panel. *Clinical and Translational Immunology*, 2016, vol. 5, no. 1, p. e55. <https://doi.org/10.1038/cti.2015.39>

15. Zalyubovskaya O. I., Zlenko V. V., Berezhnyakova M. E., Litvinova O. N., Fomina G. P. *Effect of medicines on laboratory parameters. Textbook for students of medical and pharmaceutical universities*. Kharkov, Publishing house of the National Pharmaceutical University, 2010. 84 p. (in Russian).

16. Italiani P., Boraschi D. From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation. *Frontiers in Immunology*, 2014, vol. 5, art. 514. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00514>

17. Geissman F., Gordon S., Hume D. A., Mowat A. M., Randolph G. J. Unravelling mononuclear phagocyte heterogeneity. *Nature Reviews Immunology*, 2010, vol. 10, no. 6, pp. 453–460. <https://doi.org/10.1038/nri2784>

18. Jenkins S. J., Hume D. A. Homeostasis in the mononuclear phagocyte system. *Trends in Immunology*, 2014, vol. 35, no. 8, pp. 358–367. <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.06.006>

19. Lambert C., Preijers F. W. M. B., Yanikkaya Demirel G., Sack U. Monocytes and macrophages in flow: an ESCCA initiative on advanced analyses of monocyte lineage using flow cytometry. *Cytometry. Part B: Clinical Cytometry*, 2017, vol. 92, no. 3, pp. 180–188. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.21280>
20. Stec M., Weglarczyk K., Baran J., Zuba E., Mytar B., Pryjma J., Zembala M. Expansion and differentiation of CD14⁺CD16⁻ and CD14⁺CD16⁺ human monocyte subsets from cord blood CD34⁺ hematopoietic progenitors. *Journal of Leukocyte Biology*, 2007, vol. 82, no. 3, pp. 594–602. <https://doi.org/10.1189/jlb.0207117>
21. Gerhardt T., Ley K. Monocyte trafficking across the vessel wall. *Cardiovascular Research*, 2015, vol. 107, no. 3, pp. 321–330. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvv147>
22. Berg K. E., Ljungcrantz L., Andersson L., Bryngelsson C., Hedblad B., Fredrikson G. N., Nilsson J., Björkbacka H. Elevated CD14⁺CD16⁻ monocytes predict cardiovascular events. *Circulation. Cardiovascular Genetics*, 2012, vol. 5, no. 1, pp. 122–131. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.111.960385>
23. Yang J., Zhang L., Yu. C., Yang X.-F., Wang H. Monocyte and macrophage differentiation: circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomarker Research*, 2014, vol. 2, no. 1. 9 p. <https://doi.org/10.1186/2050-7771-2-1>
24. Ancuta P., Liu K.-Y., Misra V., Wacleche V. S., Gosselin A., Zhou X., Gabuzda D. Transcriptional profiling reveals developmental relationship and distinct biological functions of CD16⁺ and CD16⁻ monocyte subsets. *BMC Genomics*, 2009, vol. 10, no. 1, art. 403. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-403>
25. Kaushansky K., Lichtman M. A., Prchal J. T., Levi M. M., Press O. W., Burns L. J., Caligiuri M. *Williams Hematology*. 9th ed. New York, McGraw-Hill Education, 2016. 2528 p.
26. Chernoshey D. A., Titov L. P. Anergy to mycobacterial antigens in lung cancer patients. Abstracts of 8th European Congress on Clinical Microbiology & Infectious Diseases, Lausanne, Switzerland, 25–28 May, 1997. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 1997, vol. 3, suppl. 2. p. 344.
27. Titov L. P. On interrelation between complement activity and monocytic reaction. *Problemy tuberkuleza* [Problems of tuberculosis], 1978, vol. 56, no. 6, pp. 64–69 (in Russian).
28. Titov L. P. Mantoux test and monocyte-complementary index in patients with pulmonary tuberculosis. *Voprosy immunologii: respublikanskii mezhvedomstvennyi sbornik nauchnykh rabot* [Immunology questions: republican interdepartmental collection of scientific works]. Minsk, 1979, pp. 55–59 (in Russian).
29. Titov L. P. Monocyte-complementary index for diseases of infectious and non-infectious etiology. *Zdravookhranenie Belorussii* [Health Care in Belarus], 1989, no. 2, pp. 28–31 (in Russian).
30. Polykchi A. K. Monocyte-complementary index in patient with dyphteria. *Visnyk Harkivs'kogo nacional'nogo universytetu imeni V. N. Karazina. Seriya Meditsina* [Bulletin of Kharkov National University named after V. N. Karazin. Series Medicine], 2002, no. 4 (546), pp. 66–68 (in Ukrainian).
31. Doshi N., Mitragotri S. Macrophages recognize size and shape of their targets. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no. 4, p. e10051. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010051>
32. Ginhoux F., Jung S. Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis. *Nature Reviews Immunology*, 2014, vol. 14, no. 6, pp. 392–404. <https://doi.org/10.1038/nri3671>
33. Gomez Perdiguero E., Klapproth K., Schulz C., Busch K., Azzoni E., Crozet L., Garner H., Trouillet C., de Bruijn M. F., Geissmann F., Rodewald H.-R. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors. *Nature*, 2015, vol. 518, no. 7540, pp. 547–551. <https://doi.org/10.1038/nature13989>
34. Epelman S., Lavine K. J., Randolph G. J. Origin and functions of tissue macrophages. *Immunity*, 2014, vol. 41, no. 1, pp. 21–35. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.06.013>
35. Reizis B., Colonna M., Trinchieri G., Barrat F., Gilliet M. Plasmacytoid dendritic cells: one-trick ponies or workhorses of the immune system? *Nature Reviews Immunology*, 2011, vol. 11, no. 8, pp. 558–565. <https://doi.org/10.1038/nri3027>
36. Steimann R. M. Decisions about dendritic cells: past, present, and future. *Annual Review of Immunology*, 2012, vol. 30, no. 1, pp. 1–22. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-100311-102839>
37. Gautier E. L., Shay T., Miller J., Greter M., Jakubzick C., Ivanov S., Helft J., Chow A., Elpek K. G., Gordonov S., Mazloom A. R., Ma'ayan A., Chua W. J., Hansen T. H., Turley S. J., Merad M., Randolph G. J. Gene-expression profiles and transcriptional regulatory pathways underlying mouse tissue macrophage identity and diversity of mouse tissue macrophages. *Nature Immunology*, 2012, vol. 13, no. 11, pp. 1118–1128. <https://doi.org/10.1038/ni.2419>
38. Bigley V., Haniffa M., Doulatov S., Wang X. N., Dickinson R., McGovern N., Jardine L., Pagan S., Dimmick I., Chua I., Wallis J., Lordan J., Morgan C., Kumararatne D. S., Doffinger R., vanderBurg M., van Dongen J., Cant A., Dick J. E., Hambleton S., Collin M. The human syndrome of dendritic cell, monocyte, B and NK lymphoid deficiency. *Journal of Experimental Medicine*, 2011, vol. 208, no. 2, pp. 227–234. <https://doi.org/10.1084/jem.20101459>
39. Hashimoto D., Chow A., Noizat C., Teo P., Beasley M. B., Leboeuf M., Becker C. D., See P., Price J., Lucas D., Greter M., Mortha A., Boyer S. W., Forsberg E. C., Tanaka M., vanRooyen N., Garcia-Sastre A., Stanley E. R., Ginhoux F., Frenette P. S., Merad M. Tissue-resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes. *Immunity*, 2013, vol. 38, no. 4, pp. 792–804. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.04.004>
40. Wynn T. A., Chawla A., Pollard J. W. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature*, 2013, vol. 496, no. 7446, pp. 445–455. <https://doi.org/10.1038/nature12034>
41. Mosser D. M., Edwards J. P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nature Reviews Immunology*, 2008, vol. 8, no. 12, pp. 958–969. <https://doi.org/10.1038/nri2448>
42. Fraternali A., Brundu S., Magnani M. Polarization and repolarization of macrophages. *Journal of Clinical and Cellular Immunology*, 2015, vol. 6, no. 2, p. e319. <https://doi.org/10.4172/2155-9899.1000319>

43. McWhorter F. Y., Wang T., Nguyen P., Chung T., Liu W. F. Modulation of macrophage phenotype by cell shape. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, vol. 110, no. 43, pp. 17253–17258. <https://doi.org/10.1073/pnas.1308887110>
44. Mills C. D., Kincaid K., Alt J. M., Heilman M. J., Hill A. M. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *Journal of Immunology*, 2000, vol. 164, no. 12, pp. 6166–6173. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.12.6166>
45. Liu Y.-C., Zou X.-B., Chai Y.-F., Yao Y.-M. Macrophage polarization in inflammatory diseases. *International Journal of Biological Sciences*, 2014, vol. 10, no. 5, pp. 520–529. <https://doi.org/10.7150/ijbs.8879>
46. Röszer T. Understanding the mysterious M2 macrophage through activation markers and effector mechanisms. *Mediators of Inflammation*, 2015, vol. 2015, art. 816460. <https://doi.org/10.1155/2015/816460>
47. Titov L. P. Introduction to immunology. Immunocompetent cells. *Meditsina = Medicine*, 1997, no. 3, pp. 34–35 (in Russian).
48. Ishikawa F., Niiro H., Iino T., Yoshida S., Saito N., Onohara S., Miyamoto T., Minagawa H., Fujii S., Shultz L. D., Harada M., Akashi K. The developmental program of human dendritic cells is operated independently of conventional myeloid and lymphoid pathways. *Blood*, 2007, vol. 110, no. 10, pp. 3591–3660. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-02-071613>
49. Basta S., Alatery A. The cross-priming pathway: a portrait of an intricate immune system. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2007, vol. 65, no. 4, pp. 311–319. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2007.01909.x>
50. Mendelson M., Hanekom W. A., Ntutela S., Vogt M., Steyn L., Maartens G., Kaplan G. Quantitative and functional differences between peripheral blood myeloid dendritic cells from patients with pleural and parenchymal lung tuberculosis. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2006, vol. 13, no. 12, pp. 1299–1306. <https://doi.org/10.1128/CVI.00132-06>
51. Martín-Fontecha A., Lanzavecchia A., Sallusto F. Dendritic cell migration to peripheral lymph nodes. *Dendritic Cells*. Berlin, 2009, pp. 31–49.
52. Amodio G., Comi M., Tomasoni D., Gianolini M. E., Rizzo R., LeMaout J., Roncarolo M.-G., Gregori S. HLA-G expression levels influence the tolerogenic activity of human DC-10. *Haematologica*, 2015, vol. 100, no. 4, pp. 548–557. <https://doi.org/10.3324/haematol.2014.113803>
53. Boltjes A., van Wijk F. Human dendritic cell functional specialization in steady-state and inflammation. *Frontiers in Immunology*, 2014, vol. 5, art. 131. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00131>
54. Xin H.-M., Peng Y.-Z., Yuan Z.-Q., Guo H. *In vitro* maturation and migration of immature dendritic cells after chemokine receptor 7 transfection. *Canadian Journal of Microbiology*, 2009, vol. 55, no. 7, pp. 859–866. <https://doi.org/10.1139/w09-041>
55. Chu J., Salter R. D. The central role of dendritic cells in immunity. *Dendritic Cells in Cancer*. New York, 2009, pp. 1–10.
56. Merad M., Sathe P., Helft J., Miller J., Mortha A. The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting. *Annual Review of Immunology*, 2013, vol. 31, no. 1, pp. 563–604. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-020711-074950>
57. Ito T., Inaba M., Inaba K., Toki J., Sogo S., Iguchi T., Adachi Y., Yamaguchi K., Amakawa R., Valladeau J., Saeland S., Fukuhara S., Ikehara S. A CD1a⁺/CD11c⁺ subset of human blood dendritic cells is a direct precursor of Langerhans cells. *Journal of Immunology*, 1999, vol. 163, no. 3, pp. 1409–1419.
58. Ludewig B., Junt T., Hengartner H., Zinkernagel R. M. Dendritic cells in autoimmune diseases. *Current Opinion in Immunology*, 2001, vol. 13, no. 6, pp. 657–662. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(01\)00275-8](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(01)00275-8)
59. Kushwah R., Hu J. Role of dendritic cells in the induction of regulatory T cells. *Cell and Bioscience*, 2011, vol. 1, art. 20. <https://doi.org/10.1186/2045-3701-1-20>
60. Diebold S. S. Activation of dendritic cells by toll-like receptors and C-type lectins. *Dendritic Cells*, Berlin, 2009, pp. 3–30.
61. Demoulin S., Roncarati P., Delvenne P., Hubert P. Production of large numbers of plasmacytoid dendritic cells with functional activities from CD34⁺ hematopoietic progenitor cells: use of interleukin-3. *Experimental Hematology*, 2012, vol. 40, no. 4, pp. 268–278. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2012.01.002>
62. Chistiakov D. A., Orekhov A. N., Sobenin I. A., Bobryshev Y. V. Plasmacytoid dendritic cells: development, functions, and role in atherosclerotic inflammation. *Frontiers in Physiology*, 2014, vol. 5, art. 279. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00279>
63. Titov L. P., Goncharov A. E., Putyrskii L. A., Koshelev S. V., Kosheleva M. I., Putyrskii Yu. L. Immunophenotype and function of monocyte-derived dendritic cells obtained from patients with breast cancer. *Zdravookhranenie = Healthcare*, 2010, no. 10, pp. 52–55 (in Russian).
64. Kahler D. J., Mellor A. L.T cell regulatory plasmacytoid dendritic cells expressing indoleamine 2,3 dioxygenase. *Dendritic Cells*. Berlin, 2009, pp. 165–196.
65. Della Bella S., Gennaro M., Vaccari M., Ferraris C., Nicola S., Riva A., Clerici M., Greco M., Villa M. L. Altered maturation of peripheral blood dendritic cells in patients with breast cancer. *British Journal of Cancer*, 2003, vol. 89, no. 8, pp. 1463–1472. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601243>
66. Titov L. P. Antineoplastic immunity and immunotherapy of oncological diseases. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2002, no. 2, pp. 103–116 (in Russian).
67. Ginhoux F., Merad M. Ontogeny and homeostasis of Langerhans cells. *Immunology and Cell Biology*, 2010, vol. 88, no. 4, pp. 387–392. <https://doi.org/10.1038/icb.2010.38>
68. Lozza L., Farinacci M., Bechtel M., Stäber M., Zedler U., Baiocchi A., del Nonno F., Kaufmann S. H. E. Communication between human dendritic cell subsets in tuberculosis: requirements for naive CD4⁺ T cell stimulation. *Frontiers in Immunology*, 2014, vol. 5, art. 324. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00324>

69. Kushwah R., Hu J. Complexity of dendritic cell subsets and their function in the host immune system. *Immunology*, 2011, vol. 133, no. 4, pp. 409–419. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2011.03457.x>
70. Lichtner M., Rossi R., Mengoni F., Vignoli S., Colacchia B., Massetti A. P., Kamga I., Hosmalin A., Vullo V., Mastroianni C. M. Circulating dendritic cells and interferon-alpha production in patients with tuberculosis: correlation with clinical outcome and treatment response. *Clinical and Experimental Immunology*, 2006, vol. 143, no. 2, pp. 329–337. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2005.02994.x>
71. El Shikh M. E., Pitzalis C. Follicular dendritic cells in health and disease. *Frontiers in Immunology*, 2012, vol. 3, art. 292. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00292>
72. Lewis K. L., Caton M. L., Bogunovic M., Greter M., Grajkowska L. T., Ng D., Klinakis A., Charo I. F., Jung S., Gommerman J. L., Ivanov I. I., Liu K., Merad M., Reizis B. Notch2 receptor signaling controls functional differentiation of dendritic cells in the spleen and intestine. *Immunity*, 2011, vol. 35, no. 5, pp. 780–791. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2011.08.013>
73. Lindstedt M., Lundberg K., Borrebaeck C. A. Gene family clustering identifies functionally associated subsets of human *in vivo* blood and tonsillar dendritic cells. *Journal of Immunology*, 2005, vol. 175, no. 8, pp. 4839–4846. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.8.4839>
74. Bogunovic M., Ginhoux F., Helft J., Shang L., Hashimoto D., Greter M., Liu K., Jakubczik C., Ingersoll M. A., Leboeuf M., Stanley E. R., Nussenzweig M., Lira S. A., Randolph G. J., Merad M. Origin of the lamina propria dendritic cell network. *Immunity*, 2009, vol. 31, no. 3, pp. 513–525. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2009.08.010>
75. Toebak M. J., Gibbs S., Bruynzeel D. P., Scheper R. J., Rustemeyer T. Dendritic cells: biology of the skin. *Contact Dermatitis*, 2009, vol. 60, no. 1, pp. 2–20. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.2008.01443.x>
76. Li H., Shi B. Tolerogenic dendritic cells and their applications in transplantation. *Cellular and Molecular Immunology*, 2015, vol. 12, no. 1, pp. 24–30. <https://doi.org/10.1038/cmi.2014.52>
77. Sim W. J., Ahl P. J., Connolly J. E. Metabolism is central to tolerogenic dendritic cell function. *Mediators of Inflammation*, 2016, vol. 2016, art. 2636701. <https://doi.org/10.1155/2016/2636701>
78. Cavanagh L. L., Boyce A., Smith L., Padmanabha J., Filgueira L., Pietschmann P., Thomas R. Rheumatoid arthritis synovium contains plasmacytoid dendritic cells. *Arthritis Research and Therapy*, 2005, vol. 7, no. 2, pp. R230–240. <https://doi.org/10.1186/ar1467>
79. Gabrilovich D. I., Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nature Reviews Immunology*, 2009, vol. 9, no. 3, pp. 162–174. <https://doi.org/10.1038/nri2506>
80. Bronte V., Brandau S., Chen S. H., Colombo M. P., Frey A. B., Greten T. F., Mandruzzato S., Murray P. J., Ochoa A., Ostrand-Rosenberg S., Rodriguez P. C., Sica A., Umansky V., Vonderheide R. H., Gabrilovich D. I. Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards. *Nature Communications*, 2016, vol. 7, art. 12150. <https://doi.org/10.1038/ncomms12150>
81. Titov L. P. Regulation of the expression of the immune system genes and its evaluation by microarrays. *90 let v avangarde mikrobiologicheskoi nauki Belarusi: sbornik trudov Respublikanskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoi 125-letiyu so dnya rozhdeniya B. Ya. El'berta (Minsk, 18 dekabrya 2015 g.)* [90 years in the vanguard of the microbiological science of Belarus: a collection of works of the Republican scientific and practical conference with international participation, dedicated to the 125th anniversary of the birth of B. Ya. Elbert (Minsk, December 18, 2015)]. Minsk, 2015, pp. 144–163 (in Russian).
82. Titov L. P. Micro-RNAs: a new class of regulatory molecules of immune response and infectious processes. *Sovremennye problemy infektsionnoi patologii cheloveka: sbornik nauchnykh trudov* [Current problems of human infectious pathology: scientific works collection]. Minsk, 2012, iss. 5, pp. 256–261 (in Russian).
83. Goncharov A. E., Titov L. P. Immunobiological effect of DNA sequences of bacteria of the genus *Klebsiella*, containing CpG motifs, on monocytic dendritic cells. *Zdravookhranenie = Healthcare*, 2007, no. 11, pp. 9–12 (in Russian).
84. Goncharov A. E., Titov L. P., Romanova I. V., Drakina S. A. Characteristic expression of costimulatory and adhesion molecules of myeloid and plasmacytoid dendritic cells in patients with multiple sclerosis. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Reports of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2010, vol. 54, no. 6, pp. 82–88 (in Russian).
85. Titov L. P., Krylov V. P., Hancharov A. Y., Reut L. I., Shafalovich A. V., Gayduk V. N., Murashko A. S. Mononuclear phagocytes, regulatory T-lymphocytes, circulating stem and endothelial cells in patients with atherosclerotic aortic aneurysm. *Zdravookhranenie = Healthcare*, 2016, no. 1, pp. 4–10 (in Russian).
86. Titov L. P., Goncharov A. E., Skryagina E. M., Shpakovskaya N. S., Antonova N. P., Zalutskaya O. M., Novokhat'ko T. S. Immunophysiological and clinical efficiency of immunotherapy of patients with multiresistant tuberculosis of lungs by nanovaccine based on autologous monocytic dendritic cells. *Zdravookhranenie = Healthcare*, 2012, no. 1, pp. 53–60 (in Russian).
87. Goncharov A. E., Titov L. P., Koshelev S. V., Putyrskii L. A., Dubrovskii A. Ch., Romanova I. V., Kosheleva M. I., Shapoval E. V., Smolyakova R. M., Besman E. V. Anti-relapse immunotherapy of patients with breast cancer using autologous dendritic cell-based vaccine. *Vesti Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2014, no. 3, pp. 4–19 (in Russian).
88. Ferlazzo G., Moretta L. Dendritic cell-based immunotherapy of cancer: current pitfalls and challenges. *Dendritic Cells: Types, Life Cycles and Biological Functions*. New York, Nova Science Publ., 2010, pp. 179–185.
89. Adorini L., Penna G. Induction of tolerogenic dendritic cells by vitamin D receptor agonists. *Dendritic Cells*. Berlin, Springer-Verlag Publ., 2009, pp. 251–273.

90. Hilkens C. M., Isaacs J. D. Tolerogenic dendritic cell therapy for rheumatoid arthritis: where are we now? *Clinical and Experimental Immunology*, 2013, vol. 172, no. 2, pp. 148–157. <https://doi.org/10.1111/cei.12038>

Информация об авторе

Титов Леонид Петрович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: leotit310@gmail.com

Information about the author

Leonid P. Titov – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: leotit310@gmail.com

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

SCIENTISTS OF BELARUS

ПАМЯТИ ЧЛЕНА-КОРРЕСПОНДЕНТА ИОСИФА ВИКТОРОВИЧА ЗАЛУЦКОГО

Видный ученый и хирург-онколог, директор ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александра», директор ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», член-корреспондент НАН Беларуси, доктор медицинских наук, профессор Иосиф Викторович Залуцкий родился в 1950 г. в деревне Мумишки Поставского района Витебской области.

Творческий путь И. В. Залуцкого начался в Минском государственном медицинском институте, который он с отличием окончил в 1978 г. Первые четыре года Иосиф Викторович работал клиническим ординатором, затем врачом радиологического отделения НИИ онкологии и медицинской радиологии Министерства здравоохранения БССР, в 1985–1990 гг. – младшим научным сотрудником, с 1990 г. – старшим научным сотрудником, затем руководителем отделения реабилитации, а через несколько лет – ведущим научным сотрудником отделения реабилитации и брахитерапии. С 1994 по 2000 г. И. В. Залуцкий был заведующим отделением общей онкологии и пластической хирургии НИИ онкологии и медицинской радиологии, а с 2000 по 2009 г. работал директором ГУ «Научно-исследовательский институт онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александра».

Иосиф Викторович впервые в СССР еще в середине 1980-х годов совместно с учениками приступил к фундаментальным исследованиям, которые в последующие годы доказали целесообразность использования пластической и реконструктивной хирургии в онкологической практике. Новаторами усовершенствована техника выделения сложных тканевых лоскутов и их аутотрансплантация с применением микрососудистого шва, доказана возможность использования микрохирургических технологий в зоне облученных тканей. В этом аспекте в 1986 г. И. В. Залуцкий защитил кандидатскую диссертацию, а в 1994 г. – докторскую. Актуальным направлением в исследованиях И. В. Залуцкого и его школы стало изучение возможностей реконструктивных и восстановительных операций как ведущего звена реабилитации пациентов с основными формами злокачественных опухолей. Под его руководством активно отработывались методы ранней медицинской реабилитации пациентов, страдающих раком молочной железы, включающие одномоментную и отсроченную реконструкцию молочной железы. Разработана методология лечения одного из наиболее частых осложнений терапии рака молочной железы – вторичной лимфедемы конечностей.

Широкое использование И. В. Залуцким современных методов пластической хирургии при лечении опухолей головы и шеи, включающих транспозицию и микрохирургическую аутотрансплантацию сложных тканевых комплексов, позволило реально решать задачи оптимального лечения поздних лучевых язв наружных покровов. Успешно решена проблема устранения фарингостом, образующихся в результате лечения местнораспространенного рака гортани. Разработан способ формирования континентного гетеротопического резервуара после цистэктомии у пациентов, страдающих раком мочевого пузыря, что позволило улучшить качество их жизни. Благодаря упорной работе в этом направлении И. В. Залуцкий в 2004 г. заслуженно стал член-



корреспондентом НАН Беларуси. Плодотворная работа на передних рубежах онкологической науки позволила И. В. Залуцкому занять пост директора ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова» (2000–2009 гг.). Работы И. В. Залуцкого в области организации противораковой борьбы, эпидемиологии рака носят новаторский характер и легли в основу международных проектов и организации работы онкологической службы республики. Под его руководством подготовлены и утверждены приказом МЗ РБ «Протоколы диагностики и лечения злокачественных новообразований», а затем «Алгоритмы диагностики и лечения больных злокачественными новообразованиями».

Напряженная работа онкологической службы республики под руководством профессора И. В. Залуцкого как главного внештатного онколога Министерства здравоохранения Республики Беларусь позволила добиться следующих результатов: снизить смертность населения республики от злокачественных новообразований с 2000 г. по 2008 г. на 3,1 % при росте заболеваемости на 25 %; снизить годовичную летальность онкологических пациентов с 35,5 % (2000 г.) до 27,3 % (2008 г.); увеличить число пациентов, состоявших на учете 5 лет и более, от 65 635 (44,9 %) в 1999 г. до 115 932 (52,2 %) в 2008 г.; добиться снижения показателя соотношения числа умерших к числу заболевших (один из важнейших показателей эффективности работы онкологической службы) с 55 % в 2004 г. до 47 % в 2008 г., что превышает показатели в Евросоюзе (56 %) и Европе (59 %).

С 2010 г. и до последних дней жизни И. В. Залуцкий возглавлял ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси». Все это время Иосиф Викторович являлся руководителем международного проекта, выполняемого совместно с коллегами Национального института рака Литовской республики, основной целью которого был анализ роли дендритных клеток в иммунотерапии рака. Также Иосиф Викторович участвовал в совместных исследованиях процессов онкогенеза с учеными Института экспериментальной патологии, онкологии и радиологии им. Р. Е. Кавецкого Национальной академии наук Украины. В рамках отдельного проекта фундаментальных и прикладных исследований И. В. Залуцкий продолжал изучение риска развития злокачественных новообразований предстательной железы.

Полученные результаты научных и клинических изысканий Иосиф Викторович Залуцкий опубликовал более чем в 445 научно-методических работах, в том числе в 250 журнальных статьях, 10 монографиях, учебниках, руководствах, 32 методических рекомендациях и инструкциях на применение, а также в 28 патентах. Под его руководством защищены 5 докторских и 17 кандидатских диссертаций. Иосиф Викторович впервые организовал в Республике Беларусь проведение Европейской школы онкологии «Онкология для студентов медицинских вузов» (Минск, 5–11 июля 2008 г., Минск, 5–11 июля 2009 г.). Он являлся постоянным лектором этой ежегодно проводимой школы. Новое поколение будет продолжать начатые совместно с профессором И. В. Залуцким исследования.

Видный ученый, прекрасный человек, талантливый врач Иосиф Викторович Залуцкий навсегда останется в нашей памяти.

Редколлегия